

WIRKUNG VON HYDROCORTISON
AUF DEN PHOSPHAT-TRANSPORT
BEI DER RATTE
(CLEARANCE-UNTERSUCHUNGEN)

Mechtild Neuweg

Liss
München
1985



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Physiologischen Institut der Universität München

Vorstand: Prof. Dr.med. Eckehart Gerlach

WIRKUNG VON HYDROCORTISON AUF DEN PHOSPHAT-TRANSPORT
BEI DER RATTE (CLEARANCE-UNTERSUCHUNGEN)

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Humanbiologie
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Mechtild Neuweg
aus
München
1984

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:

Prof. Dr. E. Gerlach

Prof. Dr. A. Frick

Mitberichterstatter:

Prof. Dr. A. Dörge

Dekan:

Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 9. 5. 1985

INHALTSÜBERSICHT

Seiten

Einleitung

1. Verteilung von Phosphat im Säugetierorganismus	1- 2
2. Sättigungscharakteristik der Phosphatresorption	2- 4
3. Lokalisation des Phosphat-Transportes in den verschiedenen Nephronabschnitten	4- 6
4. Mechanismus des Phosphat-Transportes	6- 9
5. Regulation des Phosphat-Transportes	
a. Parathormon	9-12
b. Calcitonin	12-13
c. Glucocorticoide	14-16
d. Phosphat-Diät	16-18
e. Volumen-Expansion der extrazellulären Flüssigkeit	18-20

Methodik

1. Chirurgische Versorgung der Tiere für die Experimente	21-22
2. Infusionen und Hormon-Applikationen	22-23
3. Experimentelle Protokolle	23-26
4. Analytische Methoden	26-28

Resultate

1. Der Einfluß von Hydrocortison auf den renalen Phosphat-Transport bei weiblichen thyreopara- thyreidektomierten Ratten	29-38
2. Der Einfluß von Hydrocortison auf den renalen Phosphat-Transport bei männlichen thyreopara- thyreidektomierten Ratten	38-48

3. Der Einfluß von Hydrocortison auf den renalen Phosphat-Transport bei weiblichen parathyreoid-ektomierten Ratten mit konstanter Infusion von Parathormon	48-58
--	-------

Diskussion

1. Methodische Aspekte bei den eigenen experimentellen Protokollen	59-62
2. Besprechung der eigenen Resultate und im Vergleich mit den Ergebnissen anderer Autoren	62-66
3. Lokalisation des Effektes von Hydrocortison auf den Phosphat-Transport im Nephron und der Mechanismus dieses Effektes	66-68

<u>Zusammenfassung</u>	69-70
------------------------	-------

<u>Literaturverzeichnis</u>	71-88
-----------------------------	-------

EINLEITUNG

1. Verteilung von Phosphat im Säugetierorganismus

Organisch gebundenes Phosphat ist als Komponente struktureller und funktioneller Makromoleküle und metabolischer Zwischenprodukte in biologischen Systemen weit verbreitet. Dabei dient der Pool an freiem anorganischem Phosphat als Substratquelle für zahlreiche und vielfältige Stoffwechselprozesse. So wird Phosphat in Phospholipide inkorporiert und sorgt somit für die Integrität von Membranstrukturen. Andererseits sind nach einer Verletzung aus Gewebe und Thrombocyten freigesetzte Phospholipide im Rahmen der Hämostase beteiligt. Die Desoxyribonukleinsäuren als Träger der genetischen Information, die an der Proteinbiosynthese beteiligten verschiedenen Formen der Ribonukleinsäuren und viele Coenzyme enthalten Phosphat. Im Intermediärstoffwechsel der Kohlenhydrate, Fette und Proteine erfolgen häufig enzymatisch katalysierte Phosphatübertragungen. Die wichtigste energiereiche Phosphatverbindung, das ATP, ist unerlässlich zur Aufrechterhaltung der Zellfunktionen. Schließlich üben verschiedene regulatorische Substanzen ihre biologischen Wirkungen wahrscheinlich mittels der Phosphorylierung spezifischer Proteine aus (Greengard, 1978).

Der Gesamtbestand von Phosphat im Säugetierorganismus ist beträchtlich: So liegen beim erwachsenen Menschen (70 kg) circa 800 g Phosphat vor. Der größere Teil von 500 g ist im Skelett, der Rest von 300 g in den anderen Geweben lokalisiert.

Das in diesen Geweben vorhandene Phosphat ist zu circa 99.5% intrazellulär und nur 0.5% dieser Menge ist extrazellulär. So beträgt die Plasmakonzentration für anorganisches Phosphat beim Menschen nur 1 mmol/l (Pitts, 1974).

Die Aufnahme von Phosphat erfolgt mit der normalen Nahrung, die reich ist an diesem Stoff. Folglich könnte man einen raschen Überschuß von anorganischem Phosphat im Blut erwarten. Aber genau das Gegenteil trifft zu: Die Funktionen der Niere ermöglichen eine relativ konstante Plasmakonzentration für Phosphat und somit ist dieses Organ im Rahmen dieses homöostatischen Geschehens entscheidend (Pitts, 1974). Dementsprechend ist die Ausscheidung von anorganischem Phosphat normalerweise beträchtlich.

2. Sättigungscharakteristik der Phosphatresorption

Pitts und Alexander haben bereits 1944 den renalen Transport von anorganischem Phosphat auf Grund von Clearance-Untersuchungen beim Hund beschrieben: Bei endogenem Phosphatgehalt im Plasma wurde fast alles filtrierte Phosphat resorbiert, die absolute Resorptionsrate war relativ klein und die ausgeschiedene Menge von Phosphat entsprechend noch minimal. Durch die intravenöse Infusion von Phosphatlösung wurde die Konzentration im Plasma und die filtrierte Menge von Phosphat langsam erhöht. Dabei wurden die Resorptionsraten immer größer. Bei weiterer Steigerung des Phosphatspiegels wurde schließlich eine Resorptionsmenge gefunden, die sich durch größere Zugabe von exogenem Phosphat offenbar nicht mehr erhöhte. In dieser Situation

war der Transportmechanismus für anorganisches Phosphat gesättigt und die maximale tubuläre Resorptionsrate oder das Tm_{PO_4} erreicht. Unter diesen Bedingungen war die ausgeschiedene Menge von Phosphat beträchtlich und stieg parallel zu den weiteren Erhöhungen der filtrierte Mengen an.

Die maximale Resorptionskapazität für anorganisches Phosphat ist jedoch keine feste Größe, denn sie kann durch verschiedene Faktoren beeinflusst werden. So variiert das Tm_{PO_4} linear mit der glomerulären Filtrationsrate (GFR) (Bijvoet, 1969). Aus diesem Grund ist das Tm_{PO_4}/GFR der bessere Parameter, der Einflüsse auf den renalen Phosphat-Transport anzeigt, die nicht auf Veränderungen in der glomerulären Filtrationsrate zurückzuführen sind. Auch Hormone, wie z.B. Parathormon, können das Tm_{PO_4}/GFR ändern.

Während Pitts und Alexander (1944) für den Hund einen konstanten Tm_{PO_4} -Wert nachwiesen, fand Frick sowohl bei intakten (1968) als auch bei akut parathyreoidektomierten Ratten (Frick und Durasin, 1978) einen Abfall der maximalen Resorptionskapazität für anorganisches Phosphat im Verlauf weiterer Phosphat-Infusionen und identifizierte ihn als Folge eben dieser Phosphatbelastung. Diese Abnahme des Tm_{PO_4} -Wertes könnte somit eine schnelle Adaptation an akute Phosphatbeladung reflektieren.

Studien der Sättigungskinetik an thyreoparathyreoidektomierten Ratten bestätigten den Befund, daß die Phosphatresorption mit zunehmender tubulärer Phosphatkonzentration abnimmt, und zwar sowohl im proximalen Konvolut als auch in der Henleschen

Schleife, und sie zeigten, daß die Affinität des Transportsystems für Phosphat in der Henleschen Schleife stärker ist als im proximalen Konvolut (Lang et al., 1977a).

3. Lokalisation des Phosphat-Transportes in den verschiedenen Nephronabschnitten

Schon bei den ersten Mikropunktionsuntersuchungen an der Rattenniere wurde nachgewiesen, daß die Hauptmenge (76%) des filtrierten Phosphates im proximalen Konvolut resorbiert wird (Strickler et al., 1964). Zahlreiche spätere Arbeiten bestätigten dieses Ergebnis (Gekle, 1971; Frick, 1972; Staum et al., 1972; Greger et al., 1977a). Dabei war die Resorptionskapazität für anorganisches Phosphat entlang des proximalen Tubulus nicht homogen. Amiel et al. (1970), Baumann et al. (1975) und Le Grimellec (1975) fanden in den nahe dem Glomerulum gelegenen Abschnitten des proximalen Tubulus die stärkste Abnahme der intratubulären Phosphatkonzentration.

Untersuchungen am gleichen Nephron ergaben zwar eine geringe, aber doch signifikante Resorption in der Henleschen Schleife (Kuntziger et al., 1972). (Definitionsgemäß besteht die Henlesche Schleife aus dem der Mikropunktionsuntersuchung nicht zugänglichen geraden Teil des proximalen Tubulus oder der Pars recta, dem absteigenden und aufsteigenden dünnen Schenkel und dem dicken aufsteigenden Schenkel.) Nach akuter Parathyreoid-ektomie wurde in diesem Nephronabschnitt eine ausgeprägte

fraktionelle Resorption von anorganischem Phosphat gefunden (Kuntziger et al., 1974; Greger et al., 1977a). Mittels stationärer Mikroperfusionsstudien an thyreoparathyreoidektomierten Ratten konnte diese Phosphatresorption im absteigenden Anteil der Henleschen Schleife lokalisiert werden (Lang et al., 1977b). Resultate aus Mikroperfusionen von isolierten Kaninchen-nephronen wiesen schließlich auf die Pars recta als Ort der Phosphatresorption (Dennis et al., 1976) hin, während weder in den dünnen noch in dem dicken aufsteigenden Segment der Henleschen Schleife des Kaninchens eine Phosphatresorption gefunden wurde (Rocha et al., 1977).

Widersprüchlich sind die Ergebnisse über den Phosphat-Transport im distalen Konvolut und im Sammelrohr. In den meisten Mikropunktionsstudien überstieg die fraktionelle Phosphat-delivery in das distale Nephron die Phosphat-Ausscheidung im Urin (Amiel et al., 1970; Kuntziger et al., 1972; Knox und Lechene, 1975; Poujeol et al., 1977). Mikroinjektionen (Staum et al., 1972; Brunette et al., 1973) und Mikroinfusionen (Greger et al., 1977a) von radioaktiv markiertem Phosphat in das distale Konvolut resultierten dagegen in einer fast vollständigen recovery. Eine mögliche Erklärung für diese Diskrepanz liegt in der Heterogenität der Nephronenpopulationen. Eventuell besitzen die tiefer gelegenen juxtamedullären Nephrone eine größere Resorptionskapazität für anorganisches Phosphat (Knox et al., 1977; Haas et al., 1978). Ausgehend von Parathormon-sensitiver Adenylatcyclaseaktivität in verschiedenen Nephronabschnitten des Kaninchens (Chabardes et al., 1975) geben Poujeol et al.

(1977) eine weitere Erklärung: Sie vermuten, daß die terminale Phosphatresorption auf die Arkaden beschränkt sei, den Verbindungsstücken zwischen den distalen Tubuli der tiefen Nephronen und den Sammelrohren. Eine signifikante Phosphatresorption im distalen Tubulus wurde bisher nur von Pastoriza-Munoz et al. (1978) in volumenexpandierten thyreoparathyreoidektomierten Ratten gefunden.

Die Frage, ob die Niere der Säugetiere Phosphat auch sezernieren kann, ist bisher noch nicht endgültig beantwortet worden. Bei Fischen, Amphibien, Reptilien und Vögeln wurde eine Phosphatsekretion nachgewiesen (Schneider et al., 1980). Bei den Säugetieren wird die renale Ausscheidung unter Normalbedingungen allein durch Filtration und Resorption reguliert (Pitts, 1974). Frick hat nie eine Phosphatsekretion feststellen können (1968). Unter Phosphatbelastung beobachteten Boudry et al. (1975) eine Nettosekretion im frühen proximalen Tubulus und im terminalen Nephronabschnitt. Greger et al. (1977b), die zur Erfassung von Kontamination einen Marker benutzten, fanden jedoch keine signifikante Sekretion von anorganischem Phosphat im proximalen Tubulus. Knox et al. (1977) führten die von Boudry et al. (1975) beschriebene "terminale Sekretion" auf eine erhöhte fraktionelle Phosphat-delivery der tiefer gelegenen Nephronen zurück.

4. Mechanismus des Phosphat-Transportes

Der transepitheliale Phosphat-Transport im proximalen Tubulus ist ein aktiver Prozeß (Ullrich et al., 1979). Das Phosphat

wird über die luminale Membran gegen eine elektrische Potentialdifferenz (negatives Potential der Zellinnenmembran) und einen chemischen Konzentrationsgradienten (höhere intrazelluläre Phosphatkonzentration) transportiert (Knox et al., 1980). Der Austritt von Phosphat aus der Zelle an der kontraluminalen Seite erfolgt wahrscheinlich durch eine Carrier-vermittelte Diffusion entlang dem elektrochemischen Gradienten.

Auf den Zusammenhang zwischen der Natrium- und der Phosphatre-sorption wurde bereits früh in Clearance- und Mikropunktionsexperimenten hingewiesen (Frick, 1968; 1969; Massry et al., 1969; Agus et al., 1971; Frick, 1972; Baumann et al., 1975). Auf Grund von Untersuchungen an isolierten Bürstensaumvesikeln des proximalen Tubulus wurde ein Cotransport von Natrium und Phosphat in der luminalen Membran gefordert (Hoffmann et al., 1976). Dieses Cotransport-System wies eine Sättigungskinetik auf und schien die divalente Phosphatform zusammen mit zwei Natriumionen bevorzugt zu transportieren. Dabei erbrachte die in der kontraluminalen Zellmembran lokalisierte Natrium-Kalium-ATPase die Voraussetzung für den transmembranalen Natriumgradienten, der die treibende Kraft für den Cotransport ist: Ouabain, ein spezifischer Inhibitor der Natrium-Kalium-ATPase, hemmte den Natrium-abhängigen Phosphat-Transport (Ullrich et al., 1977a).

Über die biochemischen Mechanismen, die den Phosphat-Transport regulieren, ist wenig bekannt. Kempson et al. (1981) postulierten NAD^+ als möglichen intrazellulären Regulator der Phosphat-resorption. In ihren in-vivo-Versuchen mit Ratten führte die

Injektion von Nikotinamid zu einer starken Phosphaturie. Gleichzeitig war die Konzentration von NAD^+ im renalen Cortex in diesen Experimenten stark angestiegen und in Bürstensaumvesikeln die Natrium-abhängige Phosphataufnahme verringert. Wurde NAD^+ gereinigten renalen Bürstensaumvesikeln in vitro direkt zugefügt, so war der Natrium-abhängige Phosphat-Transport ebenfalls stark vermindert. Daraufhin stellte Dousa (1982) die Hypothese auf, nach der die Rate der Gluconeogenese in den Zellen des proximalen Tubulus die Rate der Phosphatresorption bestimmen könnte: Eine gesteigerte Gluconeogenese würde zu einer Erhöhung der Konzentration des freien NAD^+ im Cytoplasma führen, das dann seinerseits mit Proteinen der luminalen Membran reagieren und so die Transporteigenschaften für Phosphat verändern könnte. Lang et al. (1983) zeigten an isolierten proximalen Tubuli des Kaninchens ebenfalls eine Hemmung des Phosphat-Transportes nach Applikation von NAD^+ . In derselben Arbeit wurde ein ähnlicher Effekt aber auch mit anderen Nukleotiden wie ADP oder 5'-AMP erzielt. In Untersuchungen mit Bürstensaumvesikeln des renalen Cortex des Kaninchens konnten sie jedoch eine direkte inhibitorische Wirkung des NAD und anderer Nukleotide auf den Phosphat-Transport ausschließen. Damit bestätigten sie die Befunde von Tenenhouse und Chu (1982) und Angielski et al. (1982), die zeigten, daß renale Bürstensaumvesikel Enzyme besitzen, die NAD^+ hydrolisieren und dabei Phosphat abspalten. Die von Kempson et al. (1981) gezeigte Verringerung der Natrium-abhängigen Phosphataufnahme nach Zusatz von NAD wäre also nur ein Verdünnungseffekt durch nicht radioaktiv markiertes Phosphat, das von NAD abgespalten wurde.

Auch intravesikuläres NAD in isolierten Bürstensaumvesikeln der Rattenniere hemmt nicht den Natrium-abhängigen Phosphat-Transport (Gmaj et al., 1984). Nukleotide scheinen somit den Transport von anorganischem Phosphat zu hemmen, sie üben offenbar jedoch keine direkte inhibitorische Wirkung aus.

Alle bisherigen Untersuchungen über den biochemischen Mechanismus des Phosphat-Transportes wurden am proximalen Tubulus durchgeführt; von den anderen Abschnitten des Nephrons ist bisher nichts bekannt.

5. Regulation des Phosphat-Transportes

Zur Aufklärung der Regulation des renalen Phosphat-Transportes wurden in den letzten Jahren viele Hormone verwendet und ihre Effekte geprüft. Im Rahmen dieser Einführung werden die Wirkungen von nur einzelnen Hormonen und Faktoren auf den Phosphat-Transport beschrieben.

a. Parathormon

Parathormon ist durch seine vitale Bedeutung in der Homöostase des Calcium-Stoffwechsels bekannt. Seine Wirkung auf den renalen Phosphat-Transport ist durch seine Spezifität einzig unter den Hormonen, die die Phosphatresorption beeinflussen (Aurbach und Heath, 1974). Die Höhe des Parathormon-Spiegels im Plasma ist für die Homöostase des Phosphates offenbar entscheidend (Lau et al., 1980). Madsen et al. (1977) fanden zwischen der Serumkonzentration von immunoreaktivem Parathormon und der maximalen

tubulären Resorption von Phosphat pro Glomerulumfiltrat (Tm_{PO_4}/GFR) eine inverse Korrelation. Zufuhr von Parathormon führte beim Hund (Agus et al., 1971), bei der Ratte (Brunette et al., 1973) und beim Menschen (Hiatt und Thompson, 1957) zur Phosphaturie. Dagegen wurde in Abwesenheit von Parathormon - z.B. nach Entfernung der Nebenschilddrüsen - fast die gesamte filtrierte Phosphatmenge resorbiert (Frick, 1969; Amiel et al., 1970; Frick, 1971). Umgekehrt normalisierte die Applikation von Parathormon die Phosphatausscheidung von parathyreoidektomierten Ratten (Frick, 1971).

Mikropunktionsuntersuchungen am Hund (Agus et al., 1971; Wen, 1974; Knox und Lechene, 1975) und an der Ratte (Gekle, 1971; Frick, 1972; Ullrich et al., 1977b) zeigten, daß der hemmende Effekt von Parathormon auf die Phosphatresorption im proximalen Tubulus lokalisiert ist, dem Segment des Nephrons, in dem die Hauptmenge des anorganischen Phosphates resorbiert wird. Eine Reduktion der Phosphatresorption durch Parathormon ließ sich auch in der Pars recta sowohl bei der Ratte (Greger et al., 1977c; Pastoriza-Munoz et al., 1978) als auch beim Kaninchen (Dennis et al., 1977) nachweisen. Im distalen Konvolut fanden Pastoriza-Munoz et al. (1978) eine deutliche, wenn auch keine vollständige Hemmung des Phosphat-Transportes durch dieses Hormon. Diese von in-vivo-Untersuchungen bestätigten Wirkungs-orte des Parathormons stimmen mit der Verteilung der Parathormon-sensitiven Adenylatcyclase-Aktivitäten in den verschiedenen Abschnitten isolierter Nephrone von Ratten und Kaninchen überein (Chabardès et al., 1975; Morel, 1981; Morel et al., 1982).

Darüber hinaus wurde eine Parathormon-sensitive Adenylatcyclase-Aktivität auch im corticalen dicken aufsteigenden Teil der Henleschen Schleife gemessen, in dem der Transport von Calcium stimuliert wird (Bourdeau und Burg, 1980).

Zahlreiche Untersuchungen wiesen darauf hin, daß die durch Parathormon induzierte Hemmung der Phosphatresorption über cyclisches AMP als "second messenger" vermittelt wird. In den Experimenten von Chase and Aurbach (1967) ging nach der Applikation von Parathormon ein Anstieg der Konzentration von cyclischem AMP im Urin der erhöhten Ausscheidung von Phosphat voraus. Das unter diesen Bedingungen ausgeschiedene cyclische AMP wurde als fast ausschließlich renalen Ursprungs definiert (Kaminsky et al., 1970). Die beschriebene verstärkte Ausscheidung von cyclischem AMP ließ sich bald mit einer Steigerung der Adenylatcyclase-Aktivität im renalen Cortex erklären (Chase und Aurbach, 1968). Agus et al. (1971; 1973) und Kuntziger et al. (1974) verwendeten in ihren Mikropunktionsuntersuchungen exogenes cyclisches AMP und zeigten bei Hund und Ratte eine Hemmung der Resorption von anorganischem Phosphat im proximalen Tubulus.

Die biochemische Abfolge dieser einzelnen Reaktionsschritte wurde in den letzten Jahren intensiv bearbeitet: Parathormon bindet sich an spezifische Rezeptoren der basolateralen Membran der Tubuluszellen, die Adenylatcyclase wird stimuliert und eine intrazelluläre Bildung von cyclischem AMP schließt sich an. Als "second messenger" vermittelt cyclisches AMP die Zellantwort,

indem es Proteinkinasen aktiviert, die ihrerseits entweder regulatorische Enzyme oder Membranproteine der luminalen Seite phosphorylieren. Auf diese Weise könnten die Transporteigenschaften der luminalen Membran verändert werden (Morel, 1981). Ein Teil des in der Zelle gebildeten cyclischen AMP kann offensichtlich der Inaktivierung durch die Phosphodiesterase entgehen und gelangt in die tubuläre Flüssigkeit (Lau et al., 1980). Man kann sich nun vorstellen, daß dieses cyclische AMP einen weiteren spezifischen Effekt auf die luminale Zellmembran ausüben kann, denn in dieser Membran ist eine cyclische-AMP-abhängige Proteinkinase gefunden worden (Kinne et al., 1975). So könnte die luminale Zellmembran von zwei Seiten verändert werden. Untersuchungen an Bürstensaumvesikeln von Parathormon-behandelten Ratten zeigten eine spezifische Hemmung der Natrium-abhängigen Phosphataufnahme (Evers et al., 1978). Diese Reduktion der Transportkapazität für anorganisches Phosphat in der luminalen Membran könnte die durch Parathormon induzierte Hemmung der Phosphatresorption zumindest im proximalen Tubulus erklären (Kinne et al., 1977).

b. Calcitonin

Calcitonin ist gemeinsam mit Parathormon für die Regulation der Calciumkonzentration im Plasma der Säugetiere verantwortlich. Bei einer Erhöhung des Calciumspiegels beginnt die Freisetzung des Calcitonins aus den parafollikulären Zellen (C-Zellen) der Schilddrüse, wodurch die Konzentration des Calciums in den physiologischen Bereich gesenkt wird (Copp, 1968). Deshalb wird dieses Hormon häufig als hypocalcämisches Hormon bezeichnet.

Von mehreren Autoren wurde eine weitere Wirkung des Calcitonins beschrieben, nämlich eine Phosphaturie (Pak et al., 1970; Nielsen et al., 1971). Die beobachtete erhöhte Ausscheidung von anorganischem Phosphat kann allerdings unspezifisch sein. Eine durch Calcitonin bewirkte Reduktion der Calciumkonzentration im Plasma intakter Tiere führt sofort zu einer Steigerung der Parathormon-Sekretion und somit zu einer verminderten Phosphatresorption. Jedoch zeigten Experimente mit parathyreoidektomierten Tieren ebenfalls eine erhöhte Phosphatausscheidung nach der Infusion von Calcitonin (Milhaud et al., 1966; Robinson et al., 1966; Koide et al., 1976). Oberleithner et al. (1980) konnten in Mikroperfusionsstudien an thyreoparathyreoidektomierten Ratten nach lokaler peritubulärer Applikation des Hormons eine offenbar direkte Wirkung des Calcitonins auf die tubuläre Phosphatresorption nachweisen.

Hinsichtlich des Mechanismus des phosphaturischen Effektes von Calcitonin ist folgendes zu sagen: Rezeptoren für Calcitonin im renalen Rattencortex (Marx et al., 1972) und Calcitonin-sensitive Adenylatcyclase-Aktivitäten in den Nephronen von Kaninchen (Chabardès et al., 1976) und Ratten (Morel, 1981) sind gefunden worden. Jedoch ist die durch Calcitonin induzierte Phosphaturie umstritten. Zum einen wurden Calcitonine von verschiedenen Tierarten verwendet, und zum anderen lagen die verwendeten Dosierungen wahrscheinlich im pharmakologischen Bereich. Bei Untersuchungen mit physiologischen Dosen von Calcitonin war nämlich keine Wirkung auf die Phosphatausscheidung thyreoparathyreoidektomierter Ratten festzustellen (Carney und Thompson, 1981).

c. Glucocorticoide

Die Produktion der Corticosteroide in der Nebennierenrinde wird durch das adrenocorticotrope Hormon (ACTH) der Hypophyse reguliert. Nach ihrer physiologischen Wirkung werden sie in Mineralocorticoide und Glucocorticoide eingeteilt, wobei die Mineralocorticoide auch glucocorticoide und umgekehrt die Glucocorticoide auch mineralocorticoide Eigenschaften in unterschiedlichem Ausmaß besitzen. Die Mineralocorticoide, deren wichtigster Vertreter das Aldosteron ist, wirken hauptsächlich auf den Mineralhaushalt von Natrium und Kalium. Die Glucocorticoide, zu denen das Hydrocortison zählt, sind u.a. an der Regulation des Kohlenhydratstoffwechsels beteiligt. Sie erhöhen die Gluconeogenese, fördern die Glykogenbildung in der Leber und hemmen die periphere Glucoseverwertung. Daneben beeinflussen sie den Protein- und Fettstoffwechsel. Ihre antiphlogistische und immunsuppressive Wirkung wird bei einer Vielzahl von Erkrankungen therapeutisch genutzt. Für ihre weite Verbreitung als physiologische Regulatoren spricht auch der Befund, daß Glucocorticoid-Hormonrezeptoren in praktisch allen Geweben des Säugetierorganismus vorhanden sind (Ballard et al., 1974). Schon 1952 war von Ingle ihre "permissive" Rolle erkannt worden, d.h. daß die Glucocorticoide selbst keinen Effekt auf einen spezifischen Prozeß haben, aber eine maximale Antwort auf ein anderes Hormon erlauben.

Auch in der Regulation der Nierenfunktion spielen die Glucocorticoide eine wichtige Rolle. Sie erhöhen die glomeruläre Filtrationsrate (Bartter et al., 1974; Baylis und Brenner,

1978; Frick und Durasin, 1979) und normalisieren in adrenalectomierten Ratten die verminderte Wasserausscheidungskapazität und den gehemmten Natriumtransport (Peters, 1959; Wiederholt et al., 1966; Stolte et al., 1968). Über die Wirkung der Glucocorticoide auf den Transport von anorganischem Phosphat bestehen allerdings widersprüchliche Ergebnisse: Beim Menschen reduzierte die intravenöse Infusion supraphysiologischer Dosen von Cortison sowohl die Phosphatkonzentration im Plasma als auch die renale maximale Resorptionskapazität (Tm_{PO_4}) für anorganisches Phosphat (Mills und Thomas, 1958; Anderson und Foster, 1959). Auch beim Hund (Roberts und Pitts, 1953) und bei der Ratte (Laron et al., 1957) führte die Applikation von Cortison zur Phosphaturie. Dagegen fanden Goldsmith et al. (1965) bei Untersuchungen am Menschen, daß Hydrocortison die Ausscheidung von anorganischem Phosphat verminderte, während die Phosphatkonzentration im Plasma nicht verändert wurde.

Beim Menschen (Fucik et al., 1975) und bei der Ratte (Williams et al., 1974) wurde eine Stimulierung der Sekretion von Parathormon durch die Glucocorticoide nachgewiesen. Folglich sind Untersuchungen an intakten Tieren hinsichtlich einer direkten glucocorticoiden Einwirkung auf den Phosphat-Transport nicht eindeutig. Ein von Parathormon unabhängiger phosphaturischer Effekt von Cortison wurde jedoch schon von Laron et al. (1957) an parathyreoidektomierten Ratten gefunden, und spätere Arbeiten bestätigten diesen Befund (Frick et al., 1981; Czekalski et al., 1982). Freiberg et al. (1982) zeigten in Studien an Bürstensaumvesikeln des renalen Cortex von adrenalectomierten Ratten, die mit Glucocorticoiden vorbehandelt worden waren,

eine gegenüber den Kontrolltieren deutliche Verminderung der Natrium-abhängigen Phosphataufnahme.

d. Phosphat-Diät

Es ist schon seit längerem bekannt, daß eine Einschränkung der Phosphatzufuhr in der Ernährung bei Ratten (Shikita et al., 1962) und beim Menschen (Thompson und Hiatt, 1957) die Ausscheidung von anorganischem Phosphat im Urin vermindert. Der endgültige Beweis einer renalen Adaptation an Veränderungen in der Phosphataufnahme wurde von Tröhler et al. (1976) und Steele und DeLuca (1976) erbracht. Sie zeigten, daß die Niere die Resorption für anorganisches Phosphat dem diätetischen Angebot anpaßt: Die fraktionelle Resorption von anorganischem Phosphat lag bei Phosphat-Titrationsstudien bei jeder gegebenen Phosphatkonzentration im Plasma bei den Ratten, deren Phosphatzufuhr eingeschränkt worden war, immer höher als bei den Ratten, die mit der Nahrung viel Phosphat aufgenommen hatten. Diese Adaptation an die unterschiedliche Phosphatzufuhr war offenbar unabhängig von Parathormon und blieb auch nach der Entfernung der Nebenschilddrüsen und der Schilddrüsen erhalten.

Mikropunktions- (Mühlbauer et al., 1977; Pastoriza-Munoz et al., 1983) und Mikroperfusionsuntersuchungen (Ullrich et al., 1977b) an Ratten, sowie Arbeiten an isolierten perfundierten Kaninchennephronen (Brazy et al., 1980) sprechen für den proximalen Tubulus als den Hauptort des Adaptationsgeschehens. Beide Nephronenpopulationen, die oberflächlichen und die tiefer

gelegenen Nephronen, resorbierten bei einer niedrigen Phosphatzufuhr in der Diät mehr als 90% des filtrierten anorganischen Phosphates. Bei einer hohen Phosphataufnahme allerdings reagierten hauptsächlich die oberflächlichen proximalen Tubuli mit einer Hemmung der Phosphatresorption (Haramati und Knox 1983). Der verschiedene Phosphatgehalt in der Nahrung wirkte auf das Natrium-Phosphat-Cotransportsystem in der luminalen Membran renaler corticaler Bürstensaumvesikel von Ratten (Stoll et al., 1979) und von Kaninchen (Cheng et al., 1983): Eine phosphatarme Diät führte zu einer gesteigerten und eine phosphatreiche Diät zu einer erniedrigten Natrium-abhängigen Phosphataufnahme durch die Bürstensaumvesikel. Auch diese Adaptation blieb nach der Entfernung der Nebenschilddrüsen erhalten.

Die Anpassung an eine niedrige Phosphatzufuhr ist überdies von einer Unwirksamkeit der phosphaturischen Aktion des Parathormons begleitet (Steele et al., 1976; Bonjour et al., 1978; Brazy et al., 1980). Pastoriza-Munoz et al. (1983) konnten die dabei fortschreitende Adaptation in den verschiedenen Nephronabschnitten nachweisen: Während nach zwei Tagen einer phosphatarmen Diät nur die Henlesche Schleife und eventuell das distale Konvolut keine Wirkung auf das Parathormon zeigten, wurde nach länger dauernder phosphatarmer Diät (7-10 Tage) auch der proximale Tubulus unempfindlich gegenüber Parathormon.

Welche molekularen Mechanismen die Adaptation auf der zellulären Ebene regulieren, ist gegenwärtig noch ungeklärt. Es scheint jedoch eine Beziehung zur Rate der renalen Gluconeogenese zu bestehen, denn diese war nach einer geringen Phosphatzufuhr drastisch abgefallen (Kreusser et al., 1980). Außerdem

führte die Behandlung von phosphatarm ernährten Ratten mit Glucocorticoiden, die die renale Gluconeogenese erhöhten, zu einer vermehrten Phosphatausscheidung, wobei die Natrium-abhängige Phosphataufnahme der luminalen Bürstensaumvesikel vermindert war (Czekalski et al., 1982; Turner et al., 1982).

Die Niere spielt somit eine Schlüsselrolle in der Homöostase des anorganischen Phosphates, indem sie ihre Transportkapazität dem diätetischen Angebot anpassen kann. Dabei ist der adaptive Mechanismus selbst der phosphaturischen Wirkung des Parathormons übergeordnet. Möglicherweise steht eher der intrazelluläre Gehalt an anorganischem Phosphat unter der Kontrolle von regulierenden Faktoren, und nicht so sehr die Phosphatkonzentration im Extrazellulärraum oder im Plasma (Bonjour et al., 1982).

e. Volumen-Expansion der extrazellulären Flüssigkeit

Zum Abschluß dieser Einführung soll noch die Bedeutung eines weniger spezifischen Faktors der Regulation der Phosphatresorption besprochen werden, nämlich des Volumens der extrazellulären Flüssigkeit (ECF). Genauer soll hier nur noch der Einfluß der Vergrößerung des ECF-Raumes auf den Phosphat-Transport beschrieben werden. Im Rahmen einer Volumen-Expansion des ECF - experimentell z.B. durch eine relativ hohe Infusionsrate von isotonischer Natriumchlorid-Lösung induziert - werden die Mengen von vielen Stoffen im Urin verstärkt ausgeschieden. So wird z.B. die Ausscheidung von Natrium, Bikarbonat, Glukose oder Harnsäure unter diesen Bedingungen erhöht, aber auch die von anorganischem Phosphat. Der Mechanismus dieser vermehrten

Ausscheidung von Substanzen kann hier nicht im Detail analysiert werden. Generell geht eine Hemmung der Resorption der genannten Stoffe voraus, wobei nervöse, humorale (z.B. das sogenannte natriuretische Hormon) und physikalische Faktoren (z.B. hydrostatische, onkotische Kräfte usw.) eine Rolle spielen können.

Wegen des primär vermuteten (Frick 1968; 1969) und später als eindeutig nachgewiesenen Zusammenhanges zwischen Natrium und Phosphat (Natrium/Phosphat-Cotransport, siehe Seite 7) wurden zunächst Clearance- und dann Mikropunktionsuntersuchungen durchgeführt, die zwischen der Resorption von Natrium und anorganischem Phosphat bei stufenweiser Volumen-Expansion des ECF eine enge Korrelation ergaben (Frick, 1968; Massry et al., 1969; Steele, 1970; Frick, 1972).

Darüber hinaus wurde geprüft, ob die bei der Volumen-Expansion beobachtete Phosphaturie eventuell über einen spezifischen Parathormon-abhängigen Mechanismus vermittelt wird: So könnte die durch die Infusion einer Calcium-freien Natriumchlorid-Lösung bewirkte Hypocalcämie die Sekretion von Parathormon stimulieren und somit zu einer verstärkten Phosphat-Ausscheidung führen (Frick, 1969). Durch Zugabe von Calcium zur Infusionslösung wurde die Ausscheidung von Phosphat reduziert, ohne daß die Ausscheidung von Natrium verändert war (Frick, 1971). Wurden die Nebenschilddrüsen entfernt und somit der Einfluß des Parathormons ausgeschaltet, war der Effekt der Volumen-Expansion auf die Phosphat-Resorption praktisch aufgehoben, während auch in diesem Fall die fraktionelle Resorption von Natrium

weiterhin vermindert blieb (Frick, 1969; Maesaka et al., 1973; Steele und Dudgeon, 1974). Dagegen erhöhte die Addition von Parathormon zu den parathyreoidektomierten volumen-expandierten Ratten die Ausscheidung von anorganischem Phosphat ähnlich wie bei den intakten Tieren (Frick, 1971).

Mikropunktionsuntersuchungen an der Ratte (Frick, 1972; Maesaka et al., 1973) und am Hund (Agus et al., 1971; Beck und Goldberg, 1974) zeigten, daß sowohl bei intakten als auch bei parathyreoidektomierten Tieren die Resorption von anorganischem Phosphat im proximalen Tubulus durch die Volumen-Expansion des extrazellulären Flüssigkeitsraumes signifikant gehemmt war. Die geringe Phosphatkonzentration im Endharn nach Parathyreoid-ektomie (Frick 1969) ist trotz der durch die Expansion bedingten Hemmung durch eine relativ hohe Phosphatresorption im proximalen Konvolut und in anderen Segmenten des Nephrons zu erklären. Wurde der Infusionslösung aber eine geringe, gerade zur Sättigung ausreichende Menge von anorganischem Phosphat zugefügt, so senkte die Volumen-Expansion in Clearance-Experimenten die maximale Resorptionskapazität für anorganisches Phosphat (Tm_{PO_4}) in intakten sowie in parathyreoidektomierten Ratten (Frick und Durasin, 1977). Ähnliche Ergebnisse sind auch in Versuchen mit Hunden erhalten worden (Hebert et al., 1972).

METHODIK

1. Chirurgische Versorgung der Tiere für die Experimente

Für die Versuche wurden entweder weibliche (240-290 g Körpergewicht) oder männliche (180-320 g Körpergewicht) Sprague-Dawley Ratten verwendet. Die Tiere erhielten eine Standarddiät (Altromin) bei freiem Zugang zu Futter und Wasser.

Für die Narkose wurde Inactin (Promonta) intraperitoneal (110 mg/kg) appliziert. Dann wurde durch einen ventralen Schnitt am Hals die Trachea freigelegt und mit einem Katheter versehen, um eventuell Schleim aus den Bronchien absaugen zu können. Anschließend wurden mit Hilfe eines Leitz-Mikroskopes die beiden Nebenschilddrüsen bei 10facher Vergrößerung lokalisiert und durch Kauterisation entfernt. Bei einigen Versuchstieren wurden außerdem die Schilddrüsen abgetragen.

Für die intravenösen Infusionen wurde die rechte Vena femoralis, zur Blutentnahme die entsprechende Arterie freigelegt. Jedes der beiden Gefäße wurde mit einem Polyäthylenschlauch versorgt, wobei der arterielle Katheter mit isotonischer Natriumchloridlösung unter geringem Zusatz von Heparin (Liquemin 2500, Hoffmann-La Roche AG) gefüllt war.

Die Bauchhöhle wurde mit einem medianen Schnitt im unteren Bereich eröffnet und die Harnblase vorgezogen. Nach einer Inzision am Fundus wurde ein Polyäthylenschlauch eingeführt. Um

den Totraum zu vermindern, wurde die Harnblase durch eine Ligatur auf ein Drittel ihres ursprünglichen Volumens reduziert. Die Urethra wurde abgebunden. Während dieser Operationen erhielten die Tiere intravenös 2 ml Ringerlösung, um den dabei auftretenden extrazellulären Flüssigkeitsverlust auszugleichen. Mittels eines rektal eingeführten Thermometers wurde die Körpertemperatur ständig gemessen und mit Hilfe eines regulierbaren, geheizten Operationstisches bei 37°C konstant gehalten.

2. Infusionen und Hormon-Applikationen

Um einen ausreichenden Urinfluß im "steady state" zu erhalten, wurde eine modifizierte Ringerlösung (120 mmol/l NaCl, 25 mmol/l NaHCO_3 , 4 mmol/l KCl) mit einer Infusionsrate von 0.15 ml/min für 2 Stunden infundiert. Nach der I. Sammelperiode, die als Kontrollperiode diente, wurde die Ringerlösung mit steigenden Mengen einer Phosphatlösung (52 mmol/l Na_2HPO_4 , 13 mmol/l NaH_2PO_4 , 25 mmol/l NaHCO_3 , 4 mmol/l KCl, eingestellt auf pH 7.40) versetzt. Das Volumenverhältnis von Ringerlösung zu Phosphatlösung betrug nach der I. Sammelperiode 2:1, nach der II. Sammelperiode 1:1, und nach der III. Sammelperiode 1:2. Nach Abschluß der IV. Sammelperiode wurde die Phosphatlösung ohne Zusatz von Ringerlösung bis zum Ende des Versuches verwendet. Durch dieses Vorgehen wurde die Phosphat-Konzentration in der Infusionslösung und damit im Plasma des Tieres stufenweise erhöht (Phosphat-Titration). Um dabei eine weitgehende Äquilibrierung im Plasma zu erzielen, wurde die neue Mischung jeweils für 10 min bis zur nächsten Sammelperiode infundiert. In dieser Weise konnte der Transportmechanismus für anorganisches

Phosphat gesättigt und die maximale Resorptionskapazität (Tm_{PO_4}) gemessen werden.

Neben der Ringer- bzw. der Ringer-Phosphat-Lösung wurde bei jedem Experiment Inulin (Laevosan-Gesellschaft, Linz/Donau) infundiert, um die Clearance von Inulin zu bestimmen, die der glomerulären Filtrationsrate (GFR) entspricht. 45 min vor Beginn der Sammelperioden wurden 25 mg Inulin in isotonischer Kochsalzlösung (10 g/100 ml in isotonischer Kochsalzlösung) als Primärdosis gegeben. Um einen konstanten Plasmaspiegel von Inulin zu gewährleisten, wurde danach 1.5 mg Inulin pro min kontinuierlich infundiert.

Die Hormone (Hydrocortison und Parathormon) wurden 1 Stunde vor den Sammelperioden eingesetzt und fortlaufend bis zum Ende der Experimente infundiert. Beide Hormone wurden in pharmakologischer Dosierung appliziert. Die Dosierung von Hydrocortison (Hoechst, Frankfurt) war 1.875 mg/h und Ratte (Stolte et al., 1968; Frick und Durasin, 1979), die von Parathormon (Eli Lilly, Indianapolis, USA, oder Hormonchemie, München) 10 USP Einheiten/h und Ratte (Frick, 1972; Frick et al., 1982).

3. Experimentelle Protokolle

Die Sammelperioden wurden etwa 2.5 Stunden nach der Parathyreoidektomie oder nach der Thyreoparathyreoidektomie bzw. 2 Stunden nach Anfang der Infusion begonnen. Zu diesem

Zeitpunkt lag bei einer Halbwertszeit von ca. 25 min (Melick et al., 1965) die Konzentration des Parathormons im Plasma im Nullbereich, und der Urinfluß entsprach annähernd der Infusionsrate. Jede Sammelperiode dauerte 10 min. Der Urin wurde unter Paraffinöl aufgefangen. In der Mitte einer jeden Periode wurde eine arterielle Blutprobe von 0.2 bis 0.3 ml entnommen. Am Ende jeder Periode wurde eine entsprechende Blutmenge von einer Spenderratte intravenös zurückgegeben. Die Spenderratte entsprach in Geschlecht, Alter und Charge dem Versuchstier und war ebenfalls 2.5 Stunden vor Versuchsbeginn parathyreoid- bzw. thyreoparathyreoidektomiert worden. Auf diese Weise konnte eine eventuelle Blutunverträglichkeit vermieden werden, und der hormonelle und ionale Gehalt des Plasmas beider Tiere war vergleichbar. Um den Einfluß tagesrhythmischer Schwankungen zu vermeiden, wurden die Proben bei allen Experimenten zwischen 13.00 und 16.30 Uhr gesammelt.

Es wurden 6 Versuchsserien durchgeführt, die aus Tabelle 1 ersichtlich sind. Alle Tiere waren parathyreoidektomiert, um den Einfluß von Parathormon auf den Phosphat-Transport auszuschließen. Zur Ausschaltung des Einflusses von Calcitonin waren bei den Tieren der Serien 1-4 auch die Schilddrüsen entfernt.

Die erste Serie mit 7 Experimenten diente dazu, die renale Phosphat-Resorption von akut thyreoparathyreoidektomierten weiblichen Ratten unter Phosphatbelastung (Titration) zu charakterisieren (Kontrolle). Die zweite Versuchsserie (7 Tiere) wurde durchgeführt, um - unter sonst identischen Versuchsbedingungen wie in Serie 1 - den Einfluß von Hydrocortison auf die Phosphat-Resorption zu prüfen.

Tabelle 1. Experimentelle Protokolle

Serie 1: Weibliche Ratten; TPTX + PO_4

Serie 2: Weibliche Ratten; TPTX + PO_4 + HC

Serie 3: Männliche Ratten; TPTX + PO_4

Serie 4: Männliche Ratten; TPTX + PO_4 + HC

Serie 5: Weibliche Ratten; PTX + PTH + PO_4

Serie 6: Weibliche Ratten; PTX + PTH + PO_4 + HC

Abkürzungen: TPTX = Thyreoparathyreoidektomie;

PTX = Parathyreoidektomie; PTH = Parathormon;

HC = Hydrocortison

Im experimentellen Protokoll entsprach die dritte Serie (12 Ratten, Kontrolle) der ersten Serie, und die vierte (11 Ratten, mit Hydrocortison) der zweiten Serie. Der wesentliche Unterschied zu den vorhergehenden Serien bestand darin, daß hier männliche Tiere verwendet wurden, um eine eventuelle Geschlechtsabhängigkeit der Wirkung von Hydrocortison auf den renalen Phosphat-Transport abzuklären.

In der fünften und in der sechsten Serie mit jeweils 4 Experimenten wurden akut parathyreoidektomierte weibliche Ratten mit Parathormon infundiert und im Rahmen einer Phosphat-Titration ohne und mit Hydrocortison-Applikation untersucht. Dabei diente die fünfte Versuchsserie als Kontrollserie. So konnte die Wirkung von Hydrocortison in der Anwesenheit von Parathormon auf die Phosphat-Resorption geprüft werden.

4. Analytische Methoden

Das Urinvolumen wurde durch Wiegen bestimmt. Für die Bestimmung von cyclischem Adenosin-3':5'-monophosphat (cAMP) wurde nach jeder Periode eine geringe Urinmenge sofort entnommen und bei -20°C eingefroren. Weitere Teile der Urinproben wurden für die Bestimmung von Inulin, anorganischem Phosphat und Natrium am gleichen Tag mit Wasser verdünnt. Das Blut wurde sofort zentrifugiert und das Plasma verdünnt, bzw. die Plasmaproteine mit Trichloressigsäure (10g/100 ml) ausgefällt. Die verdünnten Plasma- und Urinproben wurden über Nacht im Kühlschrank aufbewahrt und am nächsten Tag analysiert.

Die Inulinkonzentration in Urin und Plasma wurde mit dem Anthron-Reagens nach einer Modifikation der Methode von Walser et al. (1955) bestimmt und das anorganische Phosphat als Phosphatmolybdat nach einer Modifikation der Methode von Chen et al. (1956) und Strickler et al. (1964). Die Extinktionen wurden an einem Zeiss-Spektrophotometer (PMQ II) abgelesen. Die Natriumkonzentration in Urin und Plasma und die Gesamtcalciumkonzentration im Plasma wurden mit einem Eppendorf-Flammenphotometer gemessen. Der Gehalt an cyclischem Adenosin-3':5'-monophosphat im Urin wurde mit Hilfe der Testkombination von Boehringer, Mannheim, nach der Methode von Gilman (1970) bestimmt. Dazu wurden die auf Millipore-Filter aufgetragenen Proben mit 10 ml der Szintillationslösung versetzt. Die radioaktiven Impulse wurden in einem Tri-Carb Liquid Scintillation Spectrometer (Packard Instruments) gezählt.

Die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) wurde aus den Inulinkonzentrationen in Plasma (P_{In}) und Urin (U_{In}) und aus dem Harnzeitvolumen (∇) nach der üblichen Clearance-Formel berechnet:

$$GFR = \frac{U_{In} \cdot \nabla}{P_{In}} \quad (\text{ml/min})$$

Aus der glomerulären Filtrationsrate und der Phosphatkonzentration im Plasma (P_{PO_4}) wurde die filtrierte Menge an anorganischem Phosphat berechnet:

$$\text{filtr. Menge}_{PO_4} = P_{PO_4} \cdot GFR \quad (\mu\text{mol/min})$$

Die pro Zeiteinheit ausgeschiedene Menge an anorganischem Phosphat entspricht der im Urin gefundenen Konzentration (U_{PO_4})

multipliziert mit dem Harnzeitvolumen ($\dot{V}$):

$$\text{ausgesch. Menge}_{\text{PO}_4} = U_{\text{PO}_4} \cdot \dot{V} \text{ (}\mu\text{mol/min)}$$

Die resorbierte Menge an Phosphat ergibt sich nun aus der Differenz der filtrierten und der ausgeschiedenen Menge:

$$\text{resorb. Menge}_{\text{PO}_4} = \text{filtr. Menge}_{\text{PO}_4} - \text{ausgesch. Menge}_{\text{PO}_4} \text{ (}\mu\text{mol/min)}$$

Korrekturen für den Gehalt an Plasmawasser und den Donnan-Effekt wurden nicht durchgeführt; auch die Differenz zwischen den Phosphatkonzentrationen im Plasma und im Ultrafiltrat wurde nicht berücksichtigt (Frick et al. 1981).

Sämtliche Ergebnisse sind als Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung angegeben. Die Signifikanzen der Unterschiede wurden nach dem t-test (Student-Verteilung) berechnet.

RESULTATE

1. Der Einfluß von Hydrocortison auf den renalen Phosphat-Transport bei weiblichen thyreoparathyreoidektomierten Ratten (Serien 1-2; Tabellen 2-3; Abbildungen 1, 3)

An akut thyreoparathyreoidektomierten (TPTX) weiblichen Ratten wurden Phosphat-Titrationsstudien durchgeführt. Während die erste Serie als Kontrollserie diente, wurde den Tieren der zweiten Serie Hydrocortison als Dauerinfusion zugeführt, um dessen Wirkung auf den Phosphat-Transport zu untersuchen. Beiden Gruppen wurde bis zum Ende der I. Sammelperiode eine modifizierte Ringerlösung infundiert; auf diese Weise wurde ein Kontrollwert für die Verhältnisse bei endogenem Phosphatspiegel erhalten. Anschließend wurden alle Tiere stufenweise mit steigenden Mengen von Phosphat belastet (Titrationsstudien). So konnten Veränderungen der maximalen Resorptionskapazität für Phosphat unter Hydrocortison erfaßt werden.

Die Werte für den Urinfluß, die glomeruläre Filtrationsrate und den Phosphat-Transport sind in Tabelle 2 angegeben. Hydrocortison erhöhte den Urinfluß in der Kontrollperiode (I. Periode) von 0.17 auf 0.23 ml/min signifikant ($P < 0.001$), und in der II. Periode von 0.19 auf 0.24 ml/min ($P < 0.05$). In den folgenden Sammelperioden war der Urinfluß beider Serien gleich. Die glomeruläre Filtrationsrate, die im Laufe der Experimente in beiden Gruppen leicht anstieg, wurde durch die Hydrocortison-infusion gegenüber der Vergleichsserie nicht signifikant verändert.

Tabelle 2. Einfluß von Hydrocortison (HC) in Phosphat-Titrationsstudien bei thyreoparathyreoidektomierten (TPTX) weiblichen Ratten. Meßwerte für Urinfluß, Glomerulumfiltrat (GFR) und Resorption von anorganischem Phosphat. (Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung).

	Urinfluß		GFR	anorganisches Phosphat					resorb. M. /GFR µmol/ml	frakt. Resorpt. %	
	ml/min	ml/min	Plasma mmol/l	filtr. Menge µmol/min	ausgesch. Menge µmol/min	resorb. Menge µmol/min					
Serien 1 und 2											
I. Periode											
TPTX	0.17 ± 0.03 (n=7)	2.32 ± 0.32 (n=7)	2.69 ± 0.17 (n=7)	6.22 ± 0.94 (n=7)	0.10 ± 0.11 (n=7)	6.12 ± 0.87 (n=7)	2.65 ± 0.14 (n=7)	98.5 ± 1.5 (n=7)			
TPTX + HC	0.23 ± 0.02 (n=7)	2.47 ± 0.20 (n=7)	2.43 ± 0.47 (n=7)	5.98 ± 1.12 (n=7)	0.35 ± 0.26 (n=7)	5.63 ± 1.01 (n=7)	2.29 ± 0.45 (n=7)	94.5 ± 4.0 (n=7)			
P	< 0.001	n.s.	n.s.	n.s.	< 0.05	n.s.	n.s.	< 0.05			
II. Periode											
TPTX + PO ₄	0.19 ± 0.04 (n=7)	2.50 ± 0.34 (n=7)	3.45 ± 0.16 (n=7)	8.60 ± 1.04 (n=7)	0.82 ± 0.45 (n=7)	7.78 ± 1.01 (n=7)	3.12 ± 0.23 (n=7)	90.5 ± 4.9 (n=7)			
TPTX + PO ₄ + HC	0.24 ± 0.04 (n=7)	2.53 ± 0.39 (n=7)	3.05 ± 0.42 (n=7)	7.67 ± 1.32 (n=7)	1.50 ± 0.39 (n=7)	6.17 ± 1.07 (n=7)	2.45 ± 0.32 (n=7)	80.5 ± 4.2 (n=7)			
P	< 0.05	n.s.	< 0.05	n.s.	< 0.025	< 0.025	< 0.001	< 0.005			

Urinfluß		GFR	anorganisches Phosphat			resorb. Menge	resorb. M. /GFR	frakt. Resorpt.
ml/min	ml/min	ml/min	Plasma mmol/l	filtr. Menge $\mu\text{mol/min}$	ausgesch. Menge $\mu\text{mol/min}$	$\mu\text{mol/min}$	$\mu\text{mol/ml}$	%
<u>III. Periode</u>								
TPTX + PO ₄	0.21 $\pm$ 0.05 (n=7)	2.49 $\pm$ 0.24 (n=7)	4.30 $\pm$ 0.16 (n=7)	10.7 $\pm$ 0.81 (n=7)	2.34 $\pm$ 0.58 (n=7)	8.36 $\pm$ 1.01 (n=7)	3.36 $\pm$ 0.30 (n=7)	78.0 $\pm$ 5.6 (n=7)
TPTX + PO ₄ + HC	0.23 $\pm$ 0.03 (n=7)	2.63 $\pm$ 0.15 (n=7)	3.71 $\pm$ 0.36 (n=7)	9.73 $\pm$ 0.81 (n=7)	3.16 $\pm$ 0.48 (n=7)	6.58 $\pm$ 0.50 (n=7)	2.51 $\pm$ 0.19 (n=7)	67.7 $\pm$ 3.2 (n=7)
P	n.s.	n.s.	< 0.005	< 0.05	< 0.025	< 0.005	< 0.001	< 0.005
<u>IV. Periode</u>								
TPTX + PO ₄	0.22 $\pm$ 0.04 (n=7)	2.57 $\pm$ 0.25 (n=7)	4.85 $\pm$ 0.28 (n=7)	12.4 $\pm$ 0.8 (n=7)	4.33 $\pm$ 0.53 (n=7)	8.08 $\pm$ 0.77 (n=7)	3.16 $\pm$ 0.28 (n=7)	65.1 $\pm$ 4.1 (n=7)
TPTX + PO ₄ + HC	0.19 $\pm$ 0.03 (n=7)	2.74 $\pm$ 0.15 (n=7)	4.11 $\pm$ 0.31 (n=7)	11.2 $\pm$ 0.8 (n=7)	4.67 $\pm$ 0.47 (n=7)	6.57 $\pm$ 0.70 (n=7)	2.39 $\pm$ 0.18 (n=7)	58.4 $\pm$ 3.6 (n=7)
P	n.s.	n.s.	< 0.001	< 0.025	n.s.	< 0.005	< 0.001	< 0.01
<u>V. Periode</u>								
TPTX + PO ₄	0.24 $\pm$ 0.04 (n=7)	2.60 $\pm$ 0.22 (n=7)	5.66 $\pm$ 0.31 (n=7)	14.7 $\pm$ 1.0 (n=7)	6.87 $\pm$ 0.37 (n=7)	7.82 $\pm$ 1.00 (n=7)	3.00 $\pm$ 0.27 (n=7)	53.1 $\pm$ 3.8 (n=7)
TPTX + PO ₄ + HC	0.19 $\pm$ 0.04 (n=7)	2.74 $\pm$ 0.21 (n=7)	5.04 $\pm$ 0.32 (n=7)	13.8 $\pm$ 0.9 (n=7)	6.83 $\pm$ 0.60 (n=7)	6.88 $\pm$ 0.73 (n=7)	2.53 $\pm$ 0.20 (n=7)	50.3 $\pm$ 3.6 (n=7)
P	n.s.	n.s.	< 0.005	n.s.	n.s.	n.s.	< 0.005	n.s.

Tabelle 2. Fortsetzung

Urinfluß	GFR		anorganisches Phosphat				ausgesch. Menge µmol/min	resorb. Menge µmol/min	resorb.M. /GFR µmol/ml	frakt. Resorpt. %
	ml/min	ml/min	Plasma mmol/l	filtr. Menge µmol/min						
VI. Periode										
TPTX + PO ₄	0.19 ± 0.05 (n=7)	2.55 ± 0.26 (n=7)	5.89 ± 0.30 (n=7)	15.0 ± 1.2 (n=7)	7.77 ± 0.68 (n=6)	7.24 ± 1.04 (n=6)	2.84 ± 0.16 (n=6)	48.1 ± 3.8 (n=6)		
TPTX + PO ₄ + HC	0.18 ± 0.03 (n=7)	2.63 ± 0.19 (n=7)	5.36 ± 0.29 (n=7)	14.1 ± 1.0 (n=7)	7.60 ± 0.47 (n=7)	6.59 ± 0.92 (n=7)	2.47 ± 0.19 (n=7)	46.0 ± 3.8 (n=7)		
P	n.s.	n.s.	< 0.01	n.s.	n.s.	n.s.	< 0.005	n.s.		
VII. Periode										
TPTX + PO ₄	0.19 ± 0.04 (n=7)	2.63 ± 0.30 (n=7)	5.91 ± 0.34 (n=7)	15.5 ± 1.2 (n=7)	8.63 ± 0.53 (n=7)	6.86 ± 0.89 (n=7)	2.61 ± 0.18 (n=7)	44.2 ± 3.2 (n=7)		
TPTX + PO ₄ + HC	0.20 ± 0.02 (n=6)	2.60 ± 0.18 (n=6)	5.62 ± 0.28 (n=6)	14.6 ± 0.8 (n=6)	8.30 ± 0.30 (n=6)	6.30 ± 0.98 (n=6)	2.42 ± 0.24 (n=6)	43.0 ± 4.3 (n=6)		
P	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.		

Die Phosphatbelastung erhöhte die Phosphatkonzentration im Plasma in Serie 1 von 2.69 (I. Periode) auf 5.91 mmol/l (VII. Periode), in Serie 2 von 2.43 (I. Periode) auf 5.62 mmol/l (VII. Periode). Entsprechend nahm die filtrierte Phosphatmenge in Serie 1 von 6.22 (I. Periode) auf 15.5 μ mol/min (VII. Periode) und in Serie 2 von 5.98 (I. Periode) auf 14.6 μ mol/min (VII. Periode) zu. Dabei wurde die Konzentration des anorganischen Phosphates im Plasma unter Hydrocortison von der II. bis zur VI. Periode signifikant vermindert gefunden. Die filtrierte Phosphatmenge dagegen war in der zweiten Serie nur in der III. Periode ($P < 0.05$) und in der IV. Periode ($P < 0.025$) kleiner als in der Kontrollserie, sonst bestand in den übrigen Perioden zwischen beiden Gruppen kein signifikanter Unterschied.

Wie bei Abwesenheit von Parathormon zu erwarten, wurde in den Kontrollperioden nur wenig Phosphat ausgeschieden, nämlich 0.10 ± 0.11 , bzw. 0.35 ± 0.26 μ mol/min. Dennoch war der Unterschied bei den Gruppen signifikant: Hydrocortison erhöhte die Phosphatausscheidung auch bei endogenem Phosphatspiegel im Plasma. Durch die stufenweise Erhöhung der Phosphatkonzentration im Plasma (Phosphat-Titration) und die erhöhte filtrierte Menge des Phosphates kam es dann im Verlauf der Experimente bei beiden Gruppen zu einer vermehrten Phosphatausscheidung. Obwohl die filtrierte Menge an Phosphat unter Hydrocortison im Vergleich zur Kontrolle eher kleiner war, war die Phosphatausscheidung auch bei den Perioden II und III signifikant erhöht.

Während der Phosphat-Titration stieg in Serie 1 die resorbierte Menge an Phosphat von dem Ausgangswert 6.12 schnell an und

erreichte in der III. Periode einen Maximalwert von 8.36 $\mu\text{mol/min}$. Allerdings fiel sie in den anschließenden Perioden trotz weiterer Zunahme der Phosphatkonzentration im Plasma ab. Unter Hydrocortison (Serie 2) erhöhte sich die resorbierte Phosphatmenge von 5.63 in der I. Periode auf 6.58 $\mu\text{mol/min}$ in der III. Periode und blieb bis zum Ende des Experimentes weitgehend konstant. Hydrocortison reduzierte die absolute Resorption von anorganischem Phosphat in der II. Periode ($P < 0.025$), in der III. Periode ($P < 0.005$) und in der IV. Periode ($P < 0.005$). In den weiteren Perioden war dieser Effekt zwar nicht mehr signifikant, aber durchaus noch zu beobachten.

In Abwesenheit von Parathormon wurde eine fast vollständige fraktionelle Resorption des anorganischen Phosphates gefunden. In der I. Periode verminderte Hydrocortison diesen Wert von 98.5 auf 94.5% des filtrierte Phosphates. Mit zunehmender Phosphatkonzentration im Plasma sank die fraktionelle Resorption in beiden Serien kontinuierlich während des gesamten experimentellen Verlaufs ab und erreichte in der VII. Periode einen Wert von 44.2 bzw. 43.0%. Dabei war unter Hydrocortison der resorbierte Anteil bis zur IV. Periode signifikant kleiner.

Der Quotient der absoluten Resorption von anorganischem Phosphat pro ml Filtratvolumen zeigte besonders den hemmenden Effekt des Hydrocortisons auf den Phosphat-Transport. Bereits bei normalem Phosphatspiegel war die resorbierte Menge/GFR unter Hydrocortison mit 2.29 kleiner als in der Kontrollserie mit 2.65 $\mu\text{mol/ml}$; allerdings war dieser Unterschied statistisch nicht signifikant. Doch schon in der II. Periode, bei einer leicht erhöhten Phosphatkonzentration im Plasma, war die

resorbierte Menge/GFR in der zweiten Serie von 3.12 auf 2.45 $\mu\text{mol/ml}$ hochsignifikant verringert ($P < 0.001$). Auch in der III. Periode ($P < 0.001$), der IV. Periode ($P < 0.001$), der V. Periode ($P < 0.005$) und in der VI. Periode ($P < 0.005$) zeigte sich, daß Hydrocortison die Resorptionskapazität für Phosphat entscheidend verminderte.

Die Veränderungen der resorbierten Menge/GFR und der Phosphatkonzentrationen im Plasma im Verlauf der Titrationsstudien sind in den Abbildungen 1 und 3 graphisch dargestellt. Durch die stufenweise Erhöhung der infundierten Phosphatmenge nahm der Phosphatgehalt bei beiden Serien kontinuierlich zu, jedoch waren die Phosphatkonzentrationen im Plasma der Tiere unter Hydrocortison signifikant kleiner. Die resorbierte Menge/GFR dagegen stieg trotz der ständigen Zunahme des Phosphatgehaltes im Plasma nur bis zu einem Maximalwert an, um dann wieder abzufallen (Serie 1). Bei den Kontrolltieren waren Anstieg und Abfall ausgeprägt, mit einem deutlichen Maximum in der III. Periode. Unter dem Einfluß von Hydrocortison war ein solcher Anstieg nicht zu beobachten; die resorbierte Phosphatmenge/GFR war in allen Perioden signifikant reduziert.

Um eventuelle gleichzeitig auftretende Veränderungen im Natriumtransport festzustellen, wurden in der I. und in der VI. Periode auch die Natriumkonzentrationen in Plasma und Urin bestimmt. In der Tabelle 3 sind die filtrierte Mengen von Natrium, die Ausscheidung wie die Resorption von Natrium von den beiden Serien zusammengestellt. Bei einem gleichen Natriumgehalt im Plasma von 141.1 bzw. 141.6 mmol/l in der I. Periode

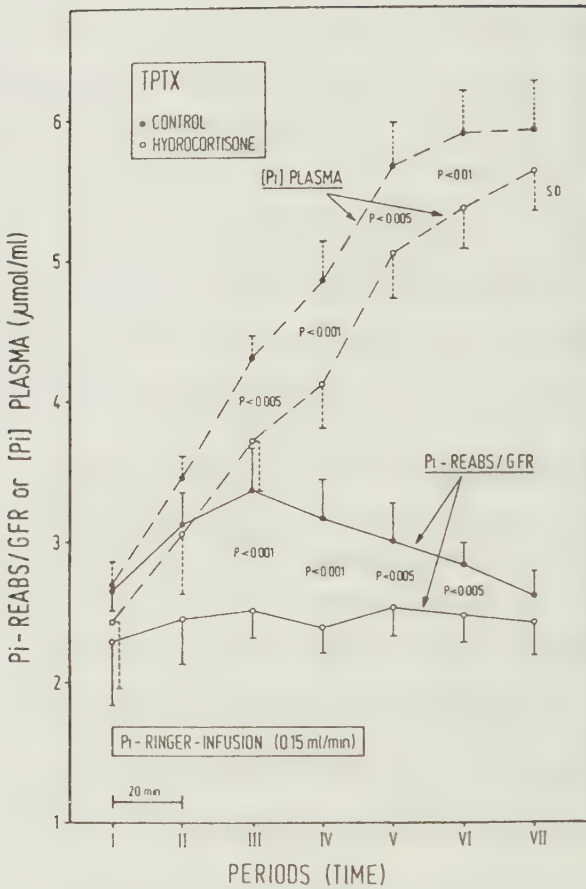


Abbildung 1. Der Effekt von Hydrocortison auf die Phosphatresorption/GFR und die Phosphatkonzentration im Plasma bei weiblichen thyreoparathyreoidektomierten (TPTX) Ratten bei Phosphat-Titrationsstudien (Serien 1 und 2).

waren unter der Einwirkung von Hydrocortison die filtrierte Menge von 326.6 auf 349.5 $\mu\text{mol/min}$, die ausgeschiedene Menge von 18.6 auf 25.9 $\mu\text{mol/min}$ und die resorbierte Menge von 307.9 auf 323.6 $\mu\text{mol/min}$ leicht erhöht. Die fraktionelle Resorption war mit 92.7 etwas niedriger als in der ersten Serie mit 94.2%. Alle dieser Unterschiede waren statistisch nicht signifikant. In der VI. Periode betrug die Natriumkonzentration im Plasma 139.9 bzw. 137.6 mmol/l . Sowohl die filtrierten als auch die ausgeschiedenen und resorbierten Mengen an Natrium waren in beiden Serien nicht signifikant verschieden. Somit ist bezüglich des Natriumtransportes kein Einfluß von Hydrocortison in diesen Clearance-Experimenten zu erkennen.

Die Konzentration des Gesamtcalciums im Plasma verminderte sich in Serie 1 von $3.49 \pm 0.11 \text{ mval/l}$ ($n=7$) in der I. Periode auf $2.45 \pm 0.17 \text{ mval/l}$ ($n=7$) in der VI. Periode, und in Serie 2 von $3.26 \pm 0.22 \text{ mval/l}$ ($n=7$) in der I. Periode auf $2.42 \pm 0.17 \text{ mval/l}$ ($n=6$) in der VI. Periode. In der I. Periode war der Unterschied zwischen den Vergleichsserien signifikant ($P<0.05$), in der VI. Periode jedoch waren die Werte nahezu identisch.

2. Der Einfluß von Hydrocortison auf den renalen Phosphat-Transport bei männlichen thyreoparathyreoidektomierten Ratten (Serien 3-4; Tabellen 4-5; Abbildung 2)

Um abzuklären, ob die bei den weiblichen Ratten gefundene phosphaturische Wirkung von Hydrocortison eventuell geschlechtsabhängig ist, wurden zwei weitere Serien mit männlichen Ratten durchgeführt. Das experimentelle Protokoll der Serien 3 und 4 entsprach genau dem Protokoll der Serien 1 und 2. Auch bei

diesen Versuchen wurden - wie bei den Experimenten mit den weiblichen Ratten - akut thyreoparathyreoidektomierte männliche Ratten verwendet. Die 12 Tiere der Serie 3 dienten als Kontrollgruppe, während die 11 Tiere der Serie 4 eine konstante Hydrocortison-Infusion erhielten. Auch diese Versuchsserien wurden als Phosphat-Titrationsen ausgeführt.

Die Ergebnisse für den Urinfluß, die glomeruläre Filtrationsrate und die Resorption von anorganischem Phosphat sind in Tabelle 4 zusammengestellt. Der Urinfluß, insgesamt kleiner als bei den weiblichen Tieren, wurde in der I. Periode durch Hydrocortison von 0.09 auf 0.16 ml/min signifikant erhöht ($P < 0.001$), und in der II. Periode von 0.10 auf 0.19 ml/min ($P < 0.001$). In den anschließenden vier Sammelperioden war der Urinfluß bei beiden Serien ähnlich.

Im Vergleich mit den Kontrollen war die glomeruläre Filtrationsrate in der Serie mit Hydrocortison etwas höher, erreichte aber nur in der IV. Periode eine statistische Signifikanz.

Der endogene Phosphatgehalt im Plasma von 3.00 (Serie 3) bzw. 3.04 mmol/l (Serie 4) war bei den thyreoparathyreoidektomierten männlichen Ratten größer als bei den weiblichen Tieren (Serien 1 und 2). Auch bei der Phosphatbelastung waren die Werte im Plasma in allen Perioden im Vergleich zu den Serien mit den weiblichen Ratten eindeutig erhöht. Während die Phosphatkonzentration im Plasma der weiblichen Tiere von der II. bis zur VI. Periode durch die Hydrocortison-Infusion signifikant verringert war, wiesen die männlichen Tiere der Serie 4 nur in der IV. Periode ($P < 0.025$) und in der V. Periode ($P < 0.025$) eine signifikant niedrigere Plasmakonzentration im Vergleich mit den

Tabelle 4. Einfluß von Hydrocortison (HC) in Phosphat-Titrationsstudien bei thyreoparathyreoidektomierten (TPTX) männlichen Ratten. Meßwerte für Urinfluß, Glomerulumfiltrat (GFR) und Resorption von anorganischem Phosphat. (Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung).

	Urinfluß	GFR		anorganisches Phosphat				resorb. M. /GFR µmol/ml	frakt. Resorpt. %
		ml/min	ml/min	Plasma mmol/l	filtr. Menge µmol/min	ausgesch. Menge µmol/min	resorb. Menge µmol/min		
Serien 3 und 4									
I. Periode									
TPTX	0.09 ± 0.03 (n=12)		2.19 ± 0.34 (n=12)	3.00 ± 0.28 (n=12)	6.54 ± 1.16 (n=12)	0.01 ± 0.01 (n=12)	6.53 ± 1.15 (n=12)	3.00 ± 0.28 (n=12)	99.9 ± 0.1 (n=12)
TPTX + HC	0.16 ± 0.04 (n=11)		2.41 ± 0.28 (n=11)	3.04 ± 0.31 (n=11)	7.34 ± 1.18 (n=11)	0.05 ± 0.09 (n=11)	7.29 ± 1.14 (n=11)	3.03 ± 0.29 (n=11)	99.5 ± 0.9 (n=11)
P	< 0.001		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
II. Periode									
TPTX + PO ₄	0.10 ± 0.04 (n=11)		2.43 ± 0.39 (n=11)	3.82 ± 0.30 (n=11)	9.22 ± 1.42 (n=11)	0.11 ± 0.16 (n=11)	9.12 ± 1.35 (n=11)	3.78 ± 0.28 (n=11)	99.0 ± 1.5 (n=11)
TPTX + PO ₄ + HC	0.19 ± 0.05 (n=10)		2.66 ± 0.26 (n=10)	3.86 ± 0.27 (n=11)	10.2 ± 1.10 (n=10)	0.48 ± 0.46 (n=10)	9.73 ± 1.07 (n=10)	3.65 ± 0.16 (n=10)	95.4 ± 4.2 (n=10)
P	< 0.001		n.s.	n.s.	n.s.	< 0.025	n.s.	n.s.	< 0.025

Tabelle 4. Fortsetzung

	Urinfluß ml/min	GFR ml/min	anorganisches Phosphat			resorb. Menge µmol/min	resorb.M. /GFR µmol/ml	frakt. resorpt. %
			Plasma mmol/l	filtr. Menge µmol/min	ausgesch. Menge µmol/min			
III. Periode								
TPTX + PO ₄	0.14 ± 0.05 (n=12)	2.45 ± 0.32 (n=12)	4.83 ± 0.31 (n=12)	11.8 ± 1.5 (n=12)	0.71 ± 0.66 (n=12)	11.1 ± 1.6 (n=12)	4.54 ± 0.37 (n=12)	94.0 ± 5.3 (n=12)
TPTX + PO ₄ + HC	0.17 ± 0.05 (n=11)	2.68 ± 0.30 (n=11)	4.70 ± 0.22 (n=11)	12.6 ± 1.3 (n=11)	1.73 ± 0.72 (n=11)	10.8 ± 1.4 (n=11)	4.04 ± 0.23 (n=11)	86.2 ± 5.6 (n=11)
P	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	< 0.005	n.s.	< 0.001	< 0.005
IV. Periode								
TPTX + PO ₄	0.16 ± 0.05 (n=12)	2.52 ± 0.30 (n=12)	5.67 ± 0.36 (n=12)	14.3 ± 1.9 (n=12)	2.33 ± 1.12 (n=12)	12.0 ± 2.3 (n=12)	4.74 ± 0.61 (n=12)	83.5 ± 8.1 (n=12)
TPTX + PO ₄ + HC	0.15 ± 0.03 (n=11)	2.82 ± 0.38 (n=11)	5.37 ± 0.22 (n=11)	15.1 ± 1.8 (n=11)	3.49 ± 0.70 (n=11)	11.6 ± 1.8 (n=11)	4.12 ± 0.31 (n=11)	76.7 ± 4.7 (n=11)
P	n.s.	< 0.05	* < 0.025	n.s.	< 0.01	n.s.	< 0.01	< 0.025

Tabelle 4. Fortsetzung

	Urinfluß ml/min	GFR ml/min	anorganisches Phosphat				resorb. Menge µmol/min	resorb.M. /GFR µmol/ml	frakt. Resorpt. %
			Plasma mmol/l	filtr. Menge µmol/min	ausgesch. Menge µmol/min				
V. Periode									
TPTX + PO ₄	0.16 ± 0.06 (n=11)	2.50 ± 0.26 (n=11)	6.65 ± 0.39 (n=11)	16.6 ± 2.0 (n=11)	5.21 ± 1.30 (n=11)	11.4 ± 2.3 (n=11)	4.54 ± 0.64 (n=11)	68.3 ± 8.6 (n=11)	
TPTX + PO ₄ + HC	0.14 ± 0.03 (n=10)	2.57 ± 0.40 (n=10)	6.21 ± 0.32 (n=10)	15.9 ± 2.0 (n=10)	5.86 ± 0.70 (n=10)	10.0 ± 1.7 (n=10)	3.91 ± 0.37 (n=10)	63.0 ± 3.7 (n=10)	
P	n.s.	n.s.	< 0.025	n.s.	n.s.	n.s.	< 0.025	n.s.	
VI. Periode									
TPTX + PO ₄	0.14 ± 0.05 (n=10)	2.63 ± 0.38 (n=10)	6.84 ± 0.47 (n=10)	18.0 ± 2.8 (n=10)	6.95 ± 0.94 (n=10)	11.0 ± 3.0 (n=10)	4.16 ± 0.71 (n=10)	60.5 ± 7.5 (n=10)	
TPTX + PO ₄ + HC	0.14 ± 0.03 (n=9)	2.70 ± 0.35 (n=9)	6.54 ± 0.44 (n=9)	17.6 ± 2.0 (n=9)	7.23 ± 0.78 (n=9)	10.4 ± 1.6 (n=9)	3.85 ± 0.46 (n=9)	58.7 ± 3.6 (n=9)	
P	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	

Kontrolltieren auf. Die pro Minute filtrierte Phosphatmenge in den sechs Sammelperioden waren bei beiden Serien ähnlich; Hydrocortison hatte diesen Parameter nicht verändert.

Durch die Abwesenheit von Parathormon bedingt, war die ausgeschiedene Phosphatmenge in der Kontrollperiode minimal, noch kleiner als bei den weiblichen Ratten unter sonst identischen Bedingungen. Die exogene Phosphatzufuhr führte schließlich zu einer Sättigung des Transport-Mechanismus für Phosphat und erbrachte hohe Ausscheidungsraten von anorganischem Phosphat, die in der VI. Periode einen Wert von etwa 7 $\mu\text{mol/min}$ erreichten. Bei den Tieren, die mit Hydrocortison behandelt wurden, waren die Ausscheidungsraten für Phosphat in der II. Periode ($P < 0.025$), in der III. Periode ($P < 0.005$) und in der IV. Periode ($P < 0.01$) signifikant höher.

Im Vergleich zu den weiblichen Ratten waren die resorbierten Mengen von Phosphat bei den männlichen Tieren während der Phosphat-Titrationsen insgesamt entscheidend größer. In den Kontrollperioden (I. Periode) wurde eine Resorption von 6.53 (Serie 3) bzw. 7.29 $\mu\text{mol/min}$ (Serie 4) gefunden. Im Verlauf der Phosphatbelastung stiegen die resorbierten Mengen ähnlich wie in den vorhergehenden Serien bis zu einem Maximalwert an, um dann langsam wieder abzufallen. Die Werte der maximalen Resorptionskapazität wurden allerdings erst in der IV. Periode erreicht, mit 12.0 in Serie 3 und 11.6 $\mu\text{mol/min}$ in Serie 4. Hydrocortison führte zu keinem signifikanten Unterschied bei diesem Parameter zwischen den beiden Vergleichsgruppen.

Die äußerst geringe Ausscheidungsrate von Phosphat in der I.

Periode geht mit einer nahezu kompletten fraktionellen Resorption einher: Die Tiere resorbierten $99.9 \pm 0.1\%$ bzw. $99.5 \pm 0.9\%$ des filtrierte Phosphates. Während die absoluten Resorptionsraten im Verlauf der Phosphat-Titrations stiegen, fielen die Werte der fraktionellen Resorption von anorganischem Phosphat ab und erreichten in der VI. Periode einen Wert von 60.5 (Serie 3) und 58.7% (Serie 4). Der Effekt von Hydrocortison auf die fraktionelle Resorption von Phosphat ist in der I. Periode, bei der fast vollständigen fraktionellen Resorption, noch nicht erkennbar; aber er wird im Verlauf der Phosphat-Titration in der II. Periode ($P < 0.025$), in der III. Periode ($P < 0.005$) und in der IV. Periode ($P < 0.025$) eindeutig.

Wird die resorbierte Menge von Phosphat auf das Filtratvolumen bezogen, tritt der hemmende Effekt von Hydrocortison auf die Phosphatresorption am deutlichsten hervor (Tabelle 4). Diese Resultate sind auch graphisch dargestellt worden (Abbildung 2). Ähnlich wie bei den weiblichen Tieren, jedoch von einem höheren Ausgangswert ausgehend, nämlich 3.00 (Serie 3) bzw. 3.03 $\mu\text{mol/ml}$ (Serie 4), stieg die resorbierte Menge/GFR bei diesen männlichen Tieren an, erreichte einen Maximalwert und fiel dann wieder ab. Die maximale resorbierte Menge von Phosphat/GFR, die bei beiden Serien in der IV. Periode erreicht wurde, betrug 4.74 (3. Serie) und 4.12 $\mu\text{mol/ml}$ (4. Serie). Der Effekt von Hydrocortison war in der III. Periode ($P < 0.001$), der IV. Periode ($P < 0.01$) und in der V. Periode ($P < 0.025$) signifikant und damit überzeugend.

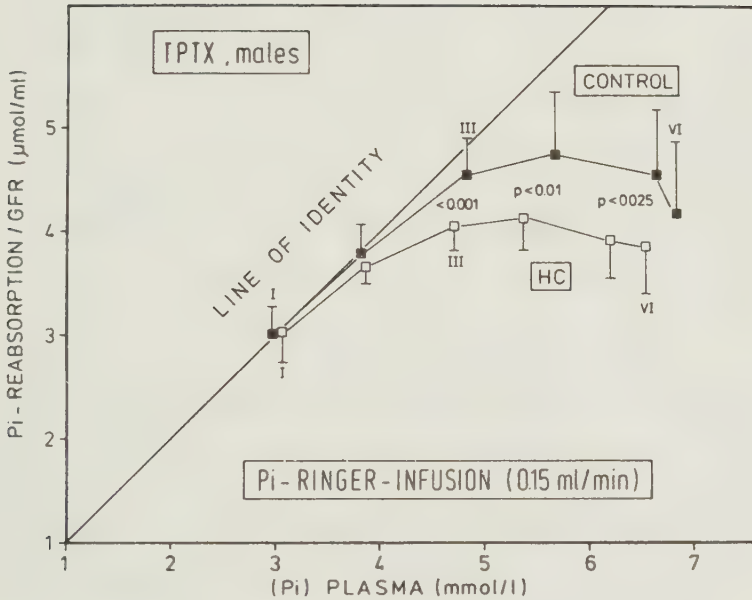


Abbildung 2. Der Effekt von Hydrocortison (HC) auf die Phosphatresorption/GFR bei männlichen thyreoparathyreoid-ektomierten (TPTX) Ratten bei Phosphat-Titrationsstudien (Serien 3 und 4).

Ähnlich wie bei den weiblichen Tieren wurden auch bei den männlichen Ratten in der I. und in der V. Periode die Natrium-Konzentrationen in Plasma und Urin gemessen, um einen eventuellen Einfluß von Hydrocortison auf den Natrium-Transport im Verlauf der Experimente zu verfolgen. Diese Resultate sind in Tabelle 5 zusammengestellt. Während in der I. Periode bezüglich der Phosphatresorption zwischen den Vergleichsserien kein Unterschied bestand, tendierten die Tiere der Serie 3 im Vergleich zu Serie 4 dazu, Wasser und Natrium zurückzuhalten. Der Urinfluß mit 0.09 ml/min und die ausgeschiedene Natrium-Menge mit 6.0 $\mu\text{mol/min}$ waren gering, die fraktionelle Resorption des Natriums mit 98.1% war angesichts der konstanten Ringerinfusion von 0.15 ml/min ungewöhnlich hoch (Serie 3). Dagegen lagen die Tiere der Serie 4, die Hydrocortison erhielten, mit einem Urinfluß von 0.16 ml/min, einer ausgeschiedenen Natrium-Menge von 15.5 $\mu\text{mol/min}$ und einer fraktionellen Natrium-Resorption von 95.3% unter diesen Bedingungen im Normalbereich. Die anfängliche Tendenz zur Natrium- und Wasserretention der Tiere in Serie 3 (I. Periode) war in der V. Periode nicht mehr vorhanden. Der Urinfluß entsprach mit 0.16 ml/min der Infusionsrate und die fraktionelle Resorption von Natrium mit 93.9% hatte sich normalisiert. Eine durch Hydrocortison verursachte Veränderung hinsichtlich des Natrium-Transportes war nicht festzustellen.

Auch die Gesamtcalciumkonzentration im Plasma, ein weiterer wichtiger Parameter bei der Beurteilung des Phosphat-Transportes, wurde während der Hydrocortison-Infusion nicht verändert. In der I. Periode betrug der Gesamtcalciumgehalt des Plasmas

Tabelle 5. Einfluß von Hydrocortison (HC) in Phosphat-Titrationsstudien bei thyreoparathyreoidektomierten (TPTX) männlichen Ratten. Meßwerte für die Resorption von Natrium. (Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung).

	Urinfluß		GFR	Natrium		filtr. Menge µmol/min	ausgesch. Menge µmol/min	resorb. Menge µmol/min	frakt. Resorpt. %	
	ml/min		ml/min	Plasma mmol/l						
Serien 3 und 4										
I. Periode										
TPTX	0.09 ± 0.03 (n=12)		2.19 ± 0.34 (n=12)		137.3 ± 1.3 (n=12)		300.3 ± 47.8 (n=12)	6.0 ± 4.9 (n=12)	294.2 ± 45.4 (n=12)	98.1 ± 1.3 (n=12)
TPTX + HC	0.16 ± 0.04 (n=11)		2.41 ± 0.28 (n=11)		137.1 ± 1.3 (n=11)		330.6 ± 38.9 (n=11)	15.5 ± 7.0 (n=11)	315.1 ± 38.0 (n=11)	95.3 ± 2.0 (n=11)
P	< 0.001		n.s.		n.s.		n.s.	< 0.005	n.s.	< 0.001
V. Periode										
TPTX + PO ₄	0.16 ± 0.06 (n=11)		2.50 ± 0.26 (n=11)		136.6 ± 2.0 (n=11)		340.8 ± 35.7 (n=11)	20.8 ± 6.7 (n=11)	320.3 ± 38.4 (n=11)	93.9 ± 2.4 (n=11)
TPTX + PO ₄ + HC	0.14 ± 0.03 (n=10)		2.57 ± 0.40 (n=10)		134.8 ± 2.5 (n=11)		351.2 ± 54.7 (n=11)	18.7 ± 6.2 (n=11)	332.5 ± 50.7 (n=11)	94.7 ± 1.2 (n=11)
P	n.s.		n.s.		n.s.		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

3.42 (Serie 3) bzw. 3.28 mval/l (Serie 4). Bis zur V. Periode war die Calcium-Konzentration im Plasma bei diesen thyreoparathyreoidektomierten Tieren weiter auf 2.44 (Serie 3) und auf 2.28 mval/l (Serie 4) gesunken; ein signifikanter Unterschied zwischen diesen Serien bestand nicht.

3. Der Einfluß von Hydrocortison auf den renalen Phosphat-Transport bei weiblichen parathyreoidektomierten Ratten mit konstanter Infusion von Parathormon (Serien 5-6; Tabellen 6-7; Abbildungen 3-4)

In den vorangegangenen Experimenten ließ sich eine phosphaturische Wirkung des Hydrocortisons in Abwesenheit von Parathormon zeigen, die offenbar vom Geschlecht der Tiere unabhängig war. In diesen folgenden Serien 5 und 6 wurden erneut weibliche Ratten genommen, um den Einfluß von Hydrocortison, nun in der Anwesenheit von Parathormon, zu prüfen. Dabei diente entsprechend die fünfte Serie als Kontrollgruppe, während bei der sechsten Serie den Tieren Hydrocortison appliziert wurde. Zur Vermeidung einer unkontrollierten endogenen Ausschüttung von Parathormon waren auch in diesem Fall die Nebenschilddrüsen entfernt. Dann erhielten die Tiere eine konstante Parathormon-Infusion. Auch bei diesen Serien wurde der Transport-Mechanismus für Phosphat im Rahmen einer Phosphat-Titration gesättigt.

Die Meßwerte für den Urinfluß, die glomeruläre Filtrationsrate und den Phosphat-Transport sind in der Tabelle 6 angegeben. In

Tabelle 6. Einfluß von Hydrocortison (HC) in Phosphat-Titrationsstudien bei parathyreoidektomierten (PTX) weiblichen Ratten während konstanter Parathormon (PTH)-Infusion. Meßwerte für Urinfluß, Glomerulumfiltrat (GFR) und Resorption von anorganischem Phosphat. (Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung).

	Urinfluß		GFR	anorganisches Phosphat					
	ml/min	ml/min		Plasma mmol/l	filtr. Menge µmol/min	ausgesch. Menge µmol/min	resorb. Menge µmol/min	resorb.M. /GFR µmol/ml	frakt. Resorpt. %
Serien 5 und 6									
I. Periode									
PTX + PTH	0.16 ± 0.04 (n=4)	2.31 ± 0.04 (n=4)	1.99 ± 0.07 (n=4)	4.59 ± 0.18 (n=4)	1.03 ± 0.34 (n=4)	3.57 ± 0.34 (n=4)	1.55 ± 0.13 (n=4)	77.7 ± 7.5 (n=4)	
PTX + PTH + HC	0.26 ± 0.02 (n=4)	2.54 ± 0.16 (n=4)	1.86 ± 0.03 (n=4)	4.72 ± 0.27 (n=4)	1.38 ± 0.40 (n=4)	3.34 ± 0.58 (n=4)	1.32 ± 0.17 (n=4)	70.6 ± 9.4 (n=4)	
P	< 0.005	< 0.05	< 0.025	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
II. + III. Periode									
PTX + PTH + PO ₄	0.19 ± 0.05 (n=8)	2.33 ± 0.11 (n=8)	2.76 ± 0.27 (n=8)	6.41 ± 0.53 (n=8)	2.84 ± 0.74 (n=8)	3.57 ± 0.34 (n=8)	1.54 ± 0.14 (n=8)	56.2 ± 8.3 (n=8)	
PTX + PTH + PO ₄ + HC	0.25 ± 0.04 (n=8)	2.60 ± 0.09 (n=8)	2.49 ± 0.19 (n=8)	6.46 ± 0.57 (n=8)	3.29 ± 0.71 (n=8)	3.17 ± 0.44 (n=8)	1.22 ± 0.14 (n=8)	49.4 ± 8.0 (n=8)	
P	< 0.025	< 0.001	< 0.05	n.s.	n.s.	n.s.	< 0.001	n.s.	

Tabelle 6. Fortsetzung

	Urinfluß		anorganisches Phosphat					
	GFR		Plasma	filtr. Menge	ausgesch. Menge	resorb. Menge	resorb.M. /GFR	frakt. Resorpt. %
	ml/min	ml/min	mmol/l	µmol/min	µmol/min	µmol/min	µmol/ml	
IV. + V. Periode								
PTX + PTH + PO ₄	0.22 ± 0.06 (n=8)	2.38 ± 0.17 (n=8)	3.73 ± 0.56 (n=8)	8.83 ± 0.92 (n=8)	5.33 ± 0.83 (n=8)	3.50 ± 0.45 (n=8)	1.48 ± 0.26 (n=8)	39.8 ± 5.2 (n=8)
PTX + PTH + PO ₄ + HC	0.26 ± 0.04 (n=8)	2.62 ± 0.18 (n=8)	3.38 ± 0.49 (n=8)	8.86 ± 1.53 (n=8)	5.87 ± 1.16 (n=8)	2.99 ± 0.63 (n=8)	1.13 ± 0.18 (n=8)	33.8 ± 5.0 (n=8)
P	n.s.	< 0.025	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	< 0.01	< 0.05
VI. + VII. Periode								
PTX + PTH + PO ₄	0.17 ± 0.04 (n=8)	2.30 ± 0.14 (n=8)	4.50 ± 0.67 (n=8)	10.3 ± 1.2 (n=8)	7.08 ± 0.94 (n=8)	3.23 ± 0.42 (n=8)	1.41 ± 0.23 (n=8)	31.4 ± 2.7 (n=8)
PTX + PTH + PO ₄ + HC	0.20 ± 0.04 (n=8)	2.55 ± 0.21 (n=8)	4.01 ± 0.43 (n=8)	10.3 ± 1.6 (n=8)	7.66 ± 1.22 (n=8)	2.59 ± 0.44 (n=8)	1.01 ± 0.10 (n=8)	25.4 ± 2.6 (n=8)
P	n.s.	< 0.025	n.s.	n.s.	n.s.	< 0.025	< 0.001	< 0.001

diesem Fall wurden die II. und III., dann die IV. und V., und schließlich die VI. und VII. Periode jeweils zusammengefaßt. In der I. Periode wurde der Urinfluß durch Hydrocortison von 0.16 auf 0.26 ml/min signifikant ($P < 0.005$) vermehrt. Eine Steigerung des Urinflusses ließ sich auch in der II. und III. Periode ($P < 0.025$) feststellen. Im weiteren Verlauf der Experimente war der Urinfluß in beiden Gruppen ähnlich. In Anwesenheit von Parathormon erhöhte Hydrocortison die glomerulären Filtrationsraten während der gesamten Untersuchungen mit unterschiedlicher Signifikanz.

Die Phosphatkonzentration im Plasma war - unter den sonst gleichen Versuchsbedingungen - insgesamt niedriger als bei den nebenschilddrüsenlosen weiblichen Ratten der Serien 1 und 2. Sie betrug in der I. Periode 1.99 (5. Serie) und 1.86 mmol/l (6. Serie). Dabei war eine signifikante Verminderung der Plasmakonzentration durch Hydrocortison in der I. Periode ($P < 0.025$) und in der II. und III. Periode ($P < 0.05$) feststellbar. Im weiteren Verlauf der Phosphat-Titration war der Einfluß von Hydrocortison auf den Phosphatspiegel zwar zu beobachten, aber dieser Effekt war - wegen der Streuung der Ergebnisse - nicht mehr signifikant. Die durch Hydrocortison erhöhten glomerulären Filtrationsraten und die gleichzeitig erniedrigten Phosphatkonzentrationen im Plasma ergaben fast unveränderte filtrierte Phosphatmengen zwischen den Serien 5 und 6 (Tabelle 6).

Schon bei endogenem Phosphatgehalt (I. Periode) führte der bekannte phosphaturische Effekt des Parathormons zu einer

beträchtlichen Ausscheidungsrate des anorganischen Phosphates von 1.03 bzw. 1.38 $\mu\text{mol}/\text{min}$ bei diesen Gruppen. Die Zufuhr von Phosphat erhöhte die Phosphatausscheidung kontinuierlich bis zu einem Wert von 7.08 bzw. 7.66 $\mu\text{mol}/\text{min}$ in der VI. und VII. Periode. Dabei schieden die mit Hydrocortison infundierten Tiere zwar mehr Phosphat aus als die Kontrollgruppe, doch war dieser Effekt statistisch nicht signifikant.

Die absolute Resorption von Phosphat, die bedeutend geringer als bei den parathyreoidektomierten Tieren der vorangegangenen vier Serien war, betrug in der I. Periode 3.57 bzw. 3.34 $\mu\text{mol}/\text{min}$. In der II. und III. Periode war dieser Wert bei den Tieren der fünften Serie mit 3.57 $\mu\text{mol}/\text{min}$ noch unverändert, während die Resorption bei den Tieren mit Hydrocortison mit 3.17 $\mu\text{mol}/\text{min}$ bereits eindeutig kleiner war. Im weiteren Verlauf der Phosphat-Titration resorbierten die Ratten immer weniger Phosphat, obwohl die filtrierte Phosphatmenge zunahm. Das bedeutet, daß die Resorptionsrate für anorganisches Phosphat bei dieser Dosierung von Parathormon und bei diesem endogenen Phosphatgehalt (I. Periode) offenbar der maximalen Resorptionskapazität für Phosphat entsprach. Gleichzeitig resorbierten die Ratten mit Hydrocortison im Verlauf der Experimente weniger Phosphat. Dieser Effekt war in der VI. und VII. Periode mit einem P-Wert < 0.025 eindeutig.

Die fraktionelle Resorption von Phosphat in der Kontrollperiode (I. Periode) war mit 77.7% (5. Serie) im Normbereich von intakten Ratten und mit 70.6% (6. Serie) bereits niedriger. Die fraktionelle Resorption sank im Laufe der Phosphat-Titration bis zur VI. und VII. Periode auf einen Wert von 31.4 bzw. 25.4%

beträchtlich. Hydrocortison verminderte die prozentuale Resorption von Phosphat in allen Perioden und erreichte in der IV. und V. Periode ($P < 0.05$) und VI. und VII. Periode ($P < 0.001$) hohe Signifikanz.

Wie erwartet, war auch die absolute Resorption von Phosphat pro ml Filtratvolumen unter Parathormoneinfluß im Vergleich mit den Serien 1 und 2 geringer. In der Kontrollperiode war die Resorption pro GFR mit 1.55 (5. Serie) bzw. 1.32 $\mu\text{mol/ml}$ (6. Serie) wieder der maximale Wert und fiel in den folgenden Perioden in beiden Versuchsserien ab. Bereits bei endogenem Phosphatspiegel war der Einfluß von Hydrocortison auf diesen Parameter feststellbar und manifestierte sich unter der Phosphatbelastung in allen Perioden mit hoher Signifikanz. So senkte Hydrocortison in der II. und III. Periode die resorbierte Menge/GFR von 1.54 auf 1.22 $\mu\text{mol/ml}$ ($P < 0.001$), in der IV. und V. Periode von 1.48 auf 1.13 $\mu\text{mol/ml}$ ($p < 0.01$) und in der VI. und VII. Periode von 1.41 auf 1.01 $\mu\text{mol/ml}$ ($P < 0.001$).

Die Natriumkonzentrationen in Plasma und Urin (I. und VI. Periode) und die entsprechenden Resorptionswerte für Natrium sind in der Tabelle 7 angegeben. In der I. Periode erhöhte Hydrocortison die glomeruläre Filtrationsrate und den Urinfluß - wie bereits beschrieben - und gleichzeitig stiegen die filtrierte und die ausgeschiedene Natriummenge an. Die absolute resorbierte Menge von Natrium war unter Hydrocortison etwas größer als in der Kontrolle, während die fraktionelle Resorption von Natrium etwas niedriger als in der Kontrolle war. Auch

Tabelle 7. Einfluß von Hydrocortison (HC) in Phosphat-Titrationstudien bei parathyreoidektomierten (PTX) weiblichen Ratten während konstanter Parathormon (PTH)-Infusion. Meßwerte für die Resorption von Natrium. (Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung).

	Urinfluß		GFR		Natrium		filtr. Menge $\mu\text{mol/min}$	ausgesch. Menge $\mu\text{mol/min}$	resorb. Menge $\mu\text{mol/min}$	frakt. Resorpt. %
	ml/min	ml/min	ml/min	mmol/l	Plasma					
Serien 5 und 6										
I. Periode										
PTX + PTH	0.16 $\pm$ 0.04 (n=4)	2.31 $\pm$ 0.04 (n=4)	138.9 $\pm$ 1.1 (n=4)	320.5 $\pm$ 6.5 (n=4)	20.8 $\pm$ 4.8 (n=4)	299.7 $\pm$ 9.2 (n=4)	93.5 $\pm$ 1.5 (n=4)			I
PTX + PTH + HC	0.26 $\pm$ 0.02 (n=4)	2.54 $\pm$ 0.16 (n=4)	140.5 $\pm$ 0.7 (n=4)	356.1 $\pm$ 21.4 (n=4)	31.4 $\pm$ 3.5 (n=4)	324.7 $\pm$ 21.7 (n=4)	91.2 $\pm$ 1.1 (n=4)			5
P	< 0.005	< 0.05	< 0.05	< 0.025	< 0.025	n.s.	< 0.05			4
VI. Periode										
PTX + PTH + PO ₄	0.17 $\pm$ 0.04 (n=4)	2.28 $\pm$ 0.18 (n=4)	138.4 $\pm$ 1.9 (n=4)	315.2 $\pm$ 25.2 (n=4)	23.0 $\pm$ 2.0 (n=4)	292.2 $\pm$ 24.9 (n=4)	92.7 $\pm$ 0.8 (n=4)			I
PTX + PTH + PO ₄ + HC	0.19 $\pm$ 0.05 (n=4)	2.56 $\pm$ 0.27 (n=4)	137.3 $\pm$ 2.6 (n=4)	350.7 $\pm$ 33.4 (n=4)	27.9 $\pm$ 1.2 (n=4)	322.8 $\pm$ 33.6 (n=4)	92.0 $\pm$ 0.8 (n=4)			
P	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	< 0.01	n.s.	n.s.			

gegen Ende der Experimente (VI. Periode) war kein spezifischer Effekt von Hydrocortison auf den Natrium-Transport nachzuweisen.

Hinsichtlich der Calciumkonzentration im Plasma ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Serien 5 und 6. In der I. Periode wurde eine Calciumkonzentration von 3.47 ± 0.17 (5. Serie) und von 3.69 ± 0.30 mval/l (6. Serie) und in der VI. Periode 2.92 ± 0.27 (5. Serie) und 3.17 ± 0.39 mval/l (6. Serie) gemessen.

In der Abbildung 3 wird die Hydrocortisonwirkung auf die resorbierte Phosphatmenge/GFR bei weiblichen parathyreoid-ektomierten Ratten in der Anwesenheit und in der Abwesenheit von Parathormon dargestellt. In der Abwesenheit von Parathormon (Serien 1 und 2) resorbierten die Tiere mehr Phosphat pro ml Filtrat als die Tiere der Serien 5 und 6, die Parathormon erhalten hatten. In beiden Fällen hemmte Hydrocortison die Phosphatresorption/GFR signifikant im Verlauf der Phosphat-Titrationsen. Dieser Hemmeffekt von Hydrocortison war in der Abwesenheit von Parathormon ausgeprägter als in der Anwesenheit von Parathormon, das seinerseits die Phosphatresorption verminderte. Somit konnte die phosphaturische Wirkung von Hydrocortison - unabhängig von Parathormon - gezeigt werden.

Hinsichtlich der Aufklärung des Mechanismus der Hydrocortisonwirkung auf den Phosphat-Transport wurde bei weiblichen Tieren in Anwesenheit und Abwesenheit von Parathormon unter Hydrocortison die Ausscheidung von cyclischem AMP im Urin gemessen. In

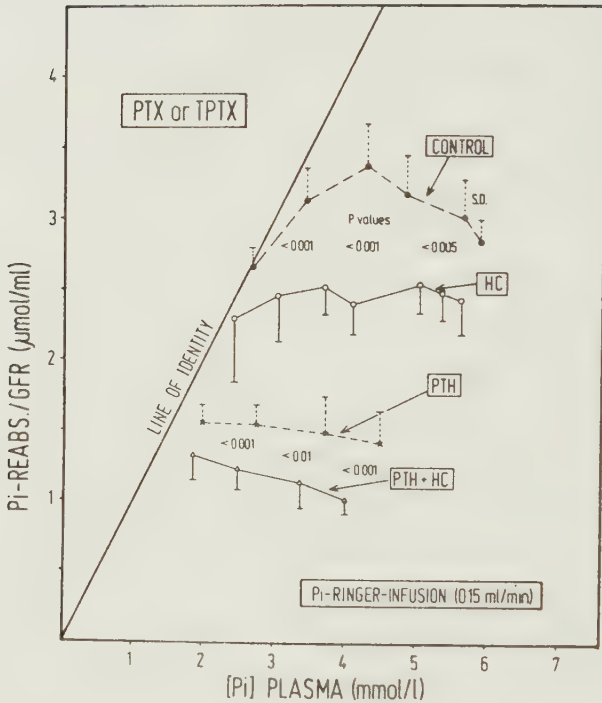


Abbildung 3. Der Effekt von Hydrocortison (HC) auf die Phosphatresorption/GFR bei weiblichen thyreo- bzw. parathyreoid-ektomierten (TPTX bzw. PTX) Ratten in der Anwesenheit und in der Abwesenheit von Parathormon (PTH) bei Phosphat-Titrationsstudien (Serien 1 und 2; Serien 5 und 6).

der Abbildung 4 sind diese Ergebnisse dargestellt. Wie erwartet, nahm die Ausscheidung des cAMP unter der Infusion von Parathormon von 90.6 ± 33.3 pmol/min (n=16) auf 130.0 ± 18.1 pmol/min (n=27) ($P < 0.001$) zu. Die gleichzeitige Zufuhr von Hydrocortison verursachte indessen keine weitere Veränderung; die Ausscheidung von cAMP war 125.2 ± 29.1 pmol/min (n=19). In Abwesenheit von Parathormon führte die alleinige Zugabe von Hydrocortison ebenfalls zu keiner signifikanten Veränderung dieses Parameters.

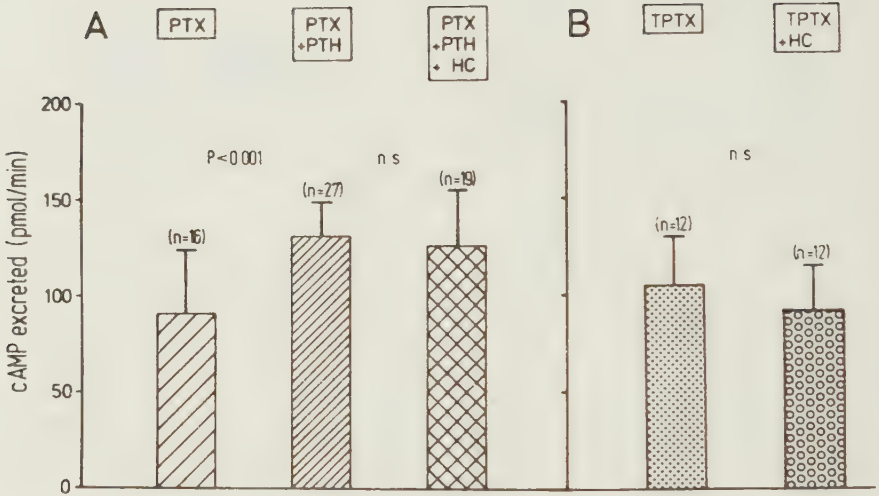


Abbildung 4. Der Effekt von Hydrocortison (HC) auf die Ausscheidung von cAMP im Urin. A: Parathyreoidektomierte (PTX) Ratten während konstanter Parathormon (PTH)-Infusion (Serien 5 und 6). B: Thyreoparathyreoidektomierte (TPTX) Ratten (Serien 1 und 2).

DISKUSSION

Die vorliegenden Clearance-Untersuchungen demonstrieren einen hemmenden Effekt von Hydrocortison auf die Resorption von anorganischem Phosphat. Diese Reduktion der Phosphatresorption war besonders eindrucksvoll, wenn der Transportmechanismus für anorganisches Phosphat gesättigt war. Darüber hinaus war diese glucocorticoide Wirkung in Anwesenheit und in Abwesenheit von Parathormon und bei weiblichen und männlichen Ratten nachweisbar.

1. Methodische Aspekte bei den eigenen experimentellen Protokollen

Zur Analyse renaler Transportvorgänge werden von den Untersuchern ganz verschiedene Methoden angewendet. Neben der klassischen Clearance-Technik ermöglichen zum Beispiel die in-vivo-Methoden der Mikropunktion und der Mikroperfusion die direkte Messung lokaler chemischer oder physikalischer Parameter in den oberflächlich gelegenen Nephronsegmenten. Die Transporteigenschaften derjenigen Nephronabschnitte, die der direkten Mikropunktion nicht zugänglich sind, besonders die der tiefer gelegenen Nephrone, können mit Hilfe der in-vitro-Mikroperfusion isolierter Nephrone untersucht werden. Neuerdings lassen sich durch die Isolierung von Membranvesikeln, die von der luminalen oder von der basolateralen Membran abstammen, in-vitro-Transportstudien durchführen.

Der Vorteil der Clearance-Technik besteht zum Beispiel darin, daß die Niere nicht aus ihrer natürlichen anatomischen Lage

entfernt wird. Die renale Durchblutung und nervöse Versorgung dieses Organs bleiben ohne chirurgische Eingriffe unverändert. Die Nährstoffe, Hormone und andere Faktoren haben ihren unbehinderten Zugang zu den intakten Nephronen. Somit wird mit den Clearance-Methoden die Summe der Transportraten der einzelnen Nephronen gemessen und die Bedeutung der Niere im Rahmen der Homöostase insgesamt erfaßt. Aus diesem Grunde wurde in den vorliegenden Untersuchungen diese Methode angewendet, um die Wirkung von Hydrocortison auf den gesamten renalen Phosphat-Transport prüfen zu können.

Um einen ausreichenden Urinfluß im "steady state" zu gewährleisten, erhielten alle Tiere in der Vorphase von zwei Stunden eine Ringerlösung mit einer Infusionsrate von 0.15 ml/min. In diesem Zeitraum wurde eine prinzipielle mäßige Volumen-Expansion der extrazellulären Flüssigkeit bei diesen Tieren induziert, denn der Urinfluß war in der Vorbereitungsphase kleiner als die Infusionsrate. Da das experimentelle Protokoll aber in allen Versuchsserien identisch war, störte diese Versuchsbedingung bei der Beurteilung des Effektes von Hydrocortison in diesen Untersuchungen nicht.

Im Verlauf dieser Untersuchungen stellte sich bald heraus, daß der Effekt von Hydrocortison auf den Phosphat-Transport besonders eindrucksvoll ist, wenn der Transportmechanismus für anorganisches Phosphat gesättigt ist. Deshalb wurden Phosphat-Titrationsstudien durchgeführt. Allerdings erhöhen Infusionen von phosphathaltigen Lösungen nicht nur den Phosphatspiegel im

Plasma, sondern gleichzeitig wird eine Hypocalcämie herbeigeführt. Der Abfall des Calciumspiegels stimuliert bei normalen Tieren die Parathormon-Sekretion, und so könnte die bekannte phosphaturische Wirkung des Parathormons den Effekt von Hydrocortison auf den Phosphat-Transport überdecken. Aus diesem Grunde wurden bei diesen Experimenten Nebenschilddrüsenlose Tiere verwendet, um den glucocorticoiden Effekt auf die Resorption von Phosphat separat zu erfassen. Trotzdem kann eine Hypocalcämie bei Nebenschilddrüsenlosen Tieren für sich die Phosphatresorption hemmen (Frick und Durasin, 1978). Bei den vorliegenden Untersuchungen war aber die Hypocalcämie in den Vergleichsgruppen ähnlich. Darüber hinaus können Glucocorticoide die Sekretion von Parathormon stimulieren (Williams et al., 1974; Fucik et al., 1975) und so indirekt den renalen Phosphat-Transport beeinflussen. Unser Ziel war es aber, einen direkten Effekt von Hydrocortison zu zeigen.

Circa 2.5 Stunden nach der Parathyreoidektomie ist die Parathormon-Konzentration im Plasma bei einer Halbwertszeit von 25 min (Melick et al., 1965) im Nullbereich. Zu diesem Zeitpunkt wurden die Clearance-Perioden begonnen. Somit wurden diese Untersuchungen an akut parathyreoidektomierten Ratten durchgeführt, bei denen noch kein ektopisches Nebenschilddrüsen-gewebe aktiviert worden sein konnte, was bei chronisch parathyreoidektomierten Ratten nicht auszuschließen ist (Ullrich et al., 1977b). Um die Wirkung von Hydrocortison auf den renalen Phosphat-Transport bei normalen Ratten zu imitieren, erhielten die akut parathyreoidektomierten Tiere der fünften und sechsten Serie eine konstante Parathormon-Infusion. Da Calcitonin

möglicherweise ebenfalls die renale Phosphatresorption verändern kann, waren bei den Tieren der ersten vier Versuchsserien zusätzlich auch die Schilddrüsen entfernt worden. Ein Mangel an Thyroxin im Verlauf dieser Experimente ist wegen der Halbwertszeit von 6-7 Tagen (Ganong, 1971) nicht vorhanden.

In den vorliegenden Untersuchungen wurde die phosphaturische Wirkung von Hydrocortison bei pharmakologischen Dosen eindeutig. Wegen der beträchtlichen Streuung der Resultate war diese Dosis notwendig. Aber auch andere Autoren, die renale Effekte von Glucocorticoiden untersucht haben, blieben ebenfalls in diesem relativ hohen Dosisbereich (Wiederholt et al., 1966; Stolte et al., 1968; Frick und Durasin, 1979). Auch Parathormon wurde in einer pharmakologischen Dosierung appliziert. Parallele Dosis-Wirkungsstudien haben gezeigt, daß die in diesen Experimenten verwendete Menge erforderlich ist, um den renalen Transport von anorganischem Phosphat nach akuter Parathyreoid-ektomie zu normalisieren (Frick et al., 1982).

2. Besprechung der eigenen Resultate und im Vergleich mit den Ergebnissen anderer Autoren

Die Applikation von Hydrocortison erhöhte zwar die glomeruläre Filtrationsrate, aber diese Erhöhung war weder bei den weiblichen noch bei den männlichen thyreoparathyreoidektomierten Ratten signifikant. Dagegen wurde bei den parathyreoidektomierten Tieren, die eine Parathormon-Infusion erhielten, eine eindeutige Steigerung der glomerulären Filtrationsrate durch

Hydrocortison gefunden. Dieser Befund ist auch von anderen Untersuchern bei ähnlichen experimentellen Bedingungen erhoben worden (Baylis und Brenner, 1978; Frick und Durasin, 1979). Unter Hydrocortison nahm der Urinfluß in unseren Clearance-Untersuchungen nur zu Beginn der Experimente zu und die fraktionelle Natriumresorption, die in einigen Fällen in den Kontrollperioden etwas abfiel, war im weiteren Verlauf der Phosphat-Titrationsstudien unbeeinflußt. Eine wesentliche Steigerung der Wasser- und Natriumausscheidung durch Glucocorticoide ist auch nur bei adrenaletomierten Tieren (Peters, 1959; Wiederholt et al., 1966; Stolte et al., 1968) oder nach einer länger dauernden hochdosierten Behandlung mit Glucocorticoiden (Haack et al., 1977) zu erwarten.

Der entscheidende Befund in den vorliegenden Untersuchungen war selbstverständlich die Veränderung des Phosphat-Transportes. Hydrocortison hemmte die Phosphatresorption besonders bei gesättigtem Transportmechanismus und dies offenbar direkt. Bei den Vergleichsgruppen waren die filtrierte Mengen von anorganischem Phosphat durch die zum Teil durch Hydrocortison erhöhten glomerulären Filtrationsraten und durch die meist etwas niedrigeren Phosphatkonzentrationen im Plasma in diesen Serien fast identisch. Die erniedrigten Calciumkonzentrationen im Plasma waren vergleichbar. Die Parathormon-Aktivitäten waren kontrolliert. Entweder war der Einfluß von Parathormon durch die Parathyreoidektomie ausgeschaltet oder die Parathormonkonzentration im Plasma bei Nebenschilddrüsenlosen Tieren durch eine Parathormon-Infusion konstant gehalten. Unter diesen strengen experimentellen Bedingungen war der Hemmeffekt von

Hydrocortison auf die Phosphatresorption signifikant. Die Resultate von den vorliegenden Clearance-Untersuchungen sprechen daher für einen direkten Effekt von Hydrocortison auf den tubulären Phosphat-Transport.

Die Hemmung der renalen Phosphatresorption durch Hydrocortison in Anwesenheit von Parathormon zeigte einen additiven Effekt des glucocorticoiden Hormons bei einer primären Hemmung der Phosphatresorption durch Parathormon. Dieses Zusammenwirken könnte ein weiteres Beispiel dafür sein, daß die Kombination von Glucocorticoiden mit anderen Hormonen in einer synergistischen Antwort resultiert (Granner, 1979).

Schließlich war der phosphaturische Effekt von Hydrocortison in diesen Experimenten bei beiden Geschlechtern nachweisbar. In welchem Ausmaß die Sexualhormone den Phosphat-Transport bei diesen Tieren variieren, ist offen. Es gibt offensichtlich Unterschiede bei der renalen Behandlung des Phosphates bei den Geschlechtern: Bei den männlichen thyreoparathyreoidektomierten Ratten wurde ein höherer endogener Phosphatgehalt im Plasma gefunden als bei den weiblichen Tieren. Die männlichen Ratten wiesen auch eine größere maximale Resorptionskapazität für anorganisches Phosphat auf. Diese Befunde stimmen mit Ergebnissen von Untersuchungen an intakten (Harris et al., 1974) und thyreoparathyreoidektomierten Ratten (Neuweg et al., 1983) überein, die bei weiblichen Tieren eine höhere fraktionelle Ausscheidung von anorganischem Phosphat festgestellt hatten.

Eine signifikant verminderte Resorption von anorganischem Phosphat durch Hydrocortison ließ sich jedoch nur nachweisen, wenn die Resorptionskapazität für anorganisches Phosphat fast oder ganz gesättigt war. Das entspricht früheren Befunden, bei denen ebenfalls bei endogenem Phosphatgehalt keine direkte Wirkung von Hydrocortison auf den Phosphat-Transport, und zwar bei normalen, adrenalectomierten und parathyreoidektomierten Ratten feststellbar war, obwohl Hydrocortison die Phosphatkonzentration im Plasma signifikant verringerte (Frick und Durasin, 1979).

In den übrigen, älteren Untersuchungen über den Einfluß der Glucocorticoide auf den renalen Phosphat-Transport waren oft wichtige Parameter nicht berücksichtigt worden. So hatten zwar schon Laron et al. (1957) von einer erhöhten Phosphatausscheidung bei Nebenschilddrüsenlosen Ratten nach der Behandlung mit Cortison berichtet, jedoch wurde in diesen Untersuchungen der Urin von in Käfigen lebenden Ratten drei Tage lang gesammelt und das Blut am Ende der Experimente aus dem Herzen entnommen. Außerdem wurde die Parathyreoidektomie sieben Tage vor Versuchsbeginn durchgeführt und die Cortisonbehandlung erfolgte täglich während der drei Tage dauernden experimentellen Periode.

Am Hund durchgeführte Studien ergaben ebenfalls eine durch Cortison bedingte Hemmung der maximalen Resorptionskapazität für anorganisches Phosphat (Roberts und Pitts, 1953), jedoch wurde zum Beispiel die Parathormon-Aktivität nicht kontrolliert.

Die am Menschen erfolgten Untersuchungen waren naturgemäß in ihren Methoden eingeschränkt und wiesen eine große Variationsbreite auf. Doch auch hier führte die Applikation von Cortison bzw. Hydrocortison zu einer Verminderung der Phosphatkonzentration im Plasma und zu einer Senkung der maximalen Resorptionskapazität für anorganisches Phosphat (Mills und Thomas, 1958; Anderson und Foster, 1959). Andererseits wurde jedoch auch über eine Erhöhung der Phosphatresorption während der Infusion von Hydrocortison bei normalem Phosphatgehalt im Plasma berichtet (Goldsmith et al., 1965).

In allen Versuchsserien unserer Clearance-Experimente bestätigte sich auch die frühere Beobachtung, daß die maximale Resorptionskapazität für anorganisches Phosphat mit zunehmender Phosphatbelastung abfällt (Frick, 1968; Frick und Durasin, 1978). Diese Abnahme des Tm_{PO_4} -Wertes könnte - ähnlich wie bei einer hohen diätetischen Phosphatzufuhr - eine renale Adaptation an eine Phosphatbelastung des Organismus darstellen, wobei möglicherweise der intrazelluläre Gehalt an anorganischem Phosphat eine wichtige Rolle spielen kann.

3. Lokalisation des Effektes von Hydrocortison auf den Phosphat-Transport im Nephron und der Mechanismus dieses Effektes

Kürzlich mit parathyreoidektomierten Ratten durchgeführte Mikropunktionsuntersuchungen zeigten, daß eine Infusion von Hydrocortison die Resorption von anorganischem Phosphat im

proximalen Konvolut hemmt (Durasin et al., 1984). Obwohl ein weiterer Effekt von Hydrocortison auf den Phosphat-Transport in anderen Nephronabschnitten nicht ausgeschlossen werden konnte, sprachen die Ergebnisse in erster Linie für den proximalen Tubulus als den Hauptort dieser glucocorticoiden Wirkung. Diese Befunde werden durch Bindungsstudien an isolierten corticalen Rattentubuli mit markiertem Triamcinolon unterstützt. Unter Verwendung dieses synthetischen Glucocorticoides wurde ein zahlenmäßig stärkerer Gehalt (3-6-fach) an Glucocorticoid-Rezeptoren im proximalen Tubulus als im distalen Tubulus gefunden (Mishina et al., 1981). Untersuchungen mit isolierten Membranvasikeln deuten ebenfalls auf den proximalen Tubulus als den Wirkungsort der Glucocorticoide hin: Bei luminalen Bürstensaumvesikeln des renalen Cortex war die Natrium-abhängige Phosphataufnahme signifikant vermindert, wenn die Ratten mit Glucocorticoiden vorbehandelt waren (Freiberg et al., 1982; Turner et al., 1982).

Noch weitgehend unbekannt sind die intrazellulären Mechanismen der glucocorticoiden Wirkung auf den renalen Transport von anorganischem Phosphat. Ein erster Hinweis auf einen möglichen Wirkungsmechanismus ergab sich aus in-vitro-Untersuchungen, in denen Glucocorticoide die Phosphodiesterase hemmten (Manganiello und Vaughan, 1972; Lavin et al., 1975; Schmidtke et al., 1976; Hahn und Halstead, 1979). Glucocorticoide könnten die renale Phosphatresorption somit über eine Erhöhung des cAMP-Gehaltes in der Zelle einschränken. Durch diese Hemmung der Phosphodiesterase könnten auch die sogenannten "permissiven" Effekte der Glucocorticoide auf Peptidhormone, deren Wirkungen

durch cAMP als second messenger vermittelt werden, erklärt werden (Jost und Rickenberg, 1971; Granner, 1979). So wäre auch die in der vorliegenden Arbeit beobachtete Potenzierung des phosphaturischen Effektes von Parathormon durch Hydrocortison einzuordnen. Über eine Potenzierung der cAMP-Antwort auf Parathormon war auch schon in in-vitro-Untersuchungen an Knochenzellen berichtet worden (Chen und Feldman, 1978; Ng et al., 1979). Eine erhöhte intrazelluläre Konzentration von cAMP wurde jedoch nicht in allen genannten Untersuchungen gefunden. Auch in den vorliegenden Clearance-Experimenten war nach der Infusion von Hydrocortison die Ausscheidung von cAMP im Urin nicht erhöht.

Eine weitere Hypothese über den Mechanismus der glucocorticoiden Wirkung auf den renalen Phosphat-Transport beruht auf einer Steigerung der Gluconeogenese im renalen Cortex von phosphatarm ernährten Ratten, die mit Triamcinolon vorbehandelt waren (Czekalski et al., 1982; Turner et al., 1982). Danach könnte die durch Glucocorticoide vermittelte erhöhte Gluconeogenese zu einem Anstieg des Gehaltes von NAD^+ im Cytoplasma führen und möglicherweise nach Veränderungen des "turnover" von bestimmten Proteinkomponenten in der Bürstensaummembran die luminale Phosphataufnahme vermindern (Dousa, 1982). Auch zur Stützung dieser Hypothese sind weitere Untersuchungen über eine Korrelation zwischen der Gluconeogenese und dem Phosphat-Transport notwendig.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Wirkung von Hydrocortison auf den renalen Phosphat-Transport bei der Ratte wurde mit Hilfe der Clearance-Technik untersucht. Dabei wurden Phosphat-Titrationsstudien durchgeführt, um den Transportmechanismus für anorganisches Phosphat zu sättigen und um somit Veränderungen der maximalen Resorptionskapazität für anorganisches Phosphat unter Hydrocortison erfassen zu können. Um die unkontrollierbare endogene Aktivität von Parathormon auszuschalten, wurden bei diesen Tieren die Nebenschilddrüsen entfernt.

Hydrocortison verminderte in allen Versuchsserien die Resorption von anorganischem Phosphat. Dieser hemmende Effekt auf die Phosphatresorption war bei gesättigtem Transportmechanismus besonders eindrucksvoll. Die phosphaturische Wirkung von Hydrocortison ließ sich sowohl bei weiblichen als auch bei männlichen Ratten nachweisen. Erhielten parathyreoidektomierte Tiere eine Parathormon-Infusion, verstärkte Hydrocortison die durch Parathormon verursachte Hemmung der Phosphatresorption.

Während Hydrocortison die Resorption von anorganischem Phosphat eindeutig verminderte, blieben die Natriumresorption wie die Calciumkonzentrationen im Plasma der hypocalcämischen Ratten unverändert. Auch die im Urin ausgeschiedene Menge von cAMP wurde unter Hydrocortison kaum beeinflusst.

Die vorliegenden Resultate sprechen für einen direkten hemmenden Effekt von Hydrocortison auf den renalen Phosphat-Transport

bei der Ratte, der vom Geschlecht der Tiere unabhängig ist. Damit unterstreichen diese Untersuchungen die Bedeutung der Glucocorticoide im Rahmen der Homöostase von anorganischem Phosphat im Organismus.

LITERATUR

Agus ZS, Puschett JB, Senesky D, Goldberg M (1971) Mode of action of parathyroid hormone and cyclic adenosine 3',5'-monophosphate on renal tubular phosphate reabsorption in the dog. J Clin Invest 50:617-626

Agus ZS, Gardner LB, Beck LH, Goldberg M (1973) Effects of parathyroid hormone on renal tubular reabsorption of calcium, sodium and phosphate. Am J Physiol 224:1143-1148

Amiel C, Kuntziger H, Richet G (1970) Micropuncture study of handling of phosphate by proximal and distal nephron in normal and parathyroidectomized rat. Evidence for distal reabsorption. Pflügers Arch 317:93-109

Anderson J, Foster JB (1959) The effect of cortisone on urinary phosphate excretion in man. Clin Sci 18:437-439

Angielski S, Zielkiewicz J, Dzierzko G (1982) Metabolism of NAD by isolated rat renal brush border membranes. Pflügers Arch 395:159-161

Aurbach GD, Heath DA (1974) Parathyroid hormone and calcitonin regulation of renal function. Kidney Int 6:331-345

Ballard PL, Baxter JD, Higgins SJ, Rousseau GG, Tomkins GM (1974) General presence of glucocorticoid receptors in mammalian tissues. Endocrinology 94:998-1002

Bartter FC, Delea CS, Kawasaki T, Gill JR Jr (1974) The adrenal cortex and the kidney. *Kidney Int* 6:272-280

Baumann K, de Rouffignac C, Roinel N, Rumrich G, Ullrich KJ (1975) Renal phosphate transport: inhomogeneity of local proximal transport rates and sodium dependence. *Pflügers Arch* 356:287-297

Baylis C, Brenner BM (1978) Mechanism of the glucocorticoid-induced increase in glomerular filtration rate. *Am J Physiol* 234:F166-F170

Beck LH, Goldberg M (1974) Mechanism of the blunted phosphaturia in saline-loaded thyroparathyroidectomized dogs. *Kidney Int* 6:18-23

Bijvoet OLM (1969) Relation of plasma phosphate concentration to tubular reabsorption of phosphate. *Clin Sci* 37:23-36

Bonjour JP, Troehler U, Preston C, Fleisch H (1978) Parathyroid hormone and renal handling of P_i : Effect of dietary P_i and diphosphonates. *Am J Physiol* 234:F497-F505

Bonjour JP, Caverzasio J, Fleisch H, Mühlbauer R, Troehler U (1982) The adaptive system of the tubular transport of phosphate. *Adv Exp Med Biol* 151:1-11

Boudry JF, Troehler U, Touabi M, Fleisch H, Bonjour JP (1975) Secretion of inorganic phosphate in the rat nephron. *Clin Sci Mol Med* 48:475-489

Bourdeau JE, Burg MB (1980) Effect of PTH on calcium transport across the cortical thick ascending limb of Henle's loop. *Am J Physiol* 239:F121-F126

Brazy PC, McKeown JW, Harris RH, Dennis VW (1980) Comparative effects of dietary phosphate, unilateral nephrectomy, and parathyroid hormone on phosphate transport by the rabbit proximal tubule. *Kidney Int* 17:788-800

Brunette MG, Taleb L, Carriere S (1973) Effect of parathyroid hormone on phosphate reabsorption along the nephron of the rat. *Am J Physiol* 225:1076-1081

Carney S, Thompson L (1981) Acute effect of calcitonin on rat renal electrolyte transport. *Am J Physiol* 240:F12-F16

Chabardès D, Imbert M, Clique A, Montégut M, Morel F (1975) PTH sensitive adenyl cyclase activity in different segments of the rabbit nephron. *Pflügers Arch* 354:229-239

Chabardès D, Imbert-Teboul M, Montégut M, Clique A, Morel F (1976) Distribution of calcitonin-sensitive adenylate cyclase activity along the rabbit kidney tubule. *Proc Natl Acad Sci USA* 73:3608-3612

Chase LR, Aurbach GD (1967) Parathyroid function and the renal excretion of 3'5'-adenylic acid. *Proc Natl Acad Sci USA* 58:518-525

Chase LR, Aurbach GD (1968) Adenyl cyclase: Anatomically separate sites for parathyroid hormone and vasopressin. Science 159:545-546

Chen PS Jr, Toribara TY, Warner H (1956) Microdetermination of phosphorus. Analyt Chem 28:1756-1758

Chen TL, Feldman D (1978) Glucocorticoid potentiation of the adenosine 3',5'-monophosphate response to parathyroid hormone in cultured rat bone cells. Endocrinology 102:589-596

Cheng L, Liang CT, Sacktor B (1983) Phosphate uptake by renal membrane vesicles of rabbits adapted to high and low phosphorus diets. Am J Physiol 245:F175-F180

Copp DH (1968) Parathyroid hormone, calcitonin and calcium homeostasis. A summary. In: Parathyroid Hormone and Thyro-calcitonin (Calcitonin), ed. by RV Talmage and LF Bélanger. Excerpta Medica International Congress Series No. 159, p.25

Czekalski S, Knox FG, Dousa TP (1982) Restoration of phosphaturic response to parathyroid hormone by glucocorticoid treatment in phosphorus-deprived rats. J Lab Clin Med 100:858-865

Dennis VW, Woodhall PB, Robinson RR (1976) Characteristics of phosphate transport in isolated proximal tubule. Am J Physiol 231:979-985

Dennis VW, Bello-Reuss E, Robinson RR (1977) Response of phosphate transport to parathyroid hormone in segments of rabbit nephron. Am J Physiol 233:F29-F38

Dousa TP (1982) Possible relationship of gluconeogenesis to modulation of phosphate transport in the proximal tubule. Adv Exp Med Biol 151:55-64

Durasin I, Frick A, Neuweg M (1984) Glucocorticoid-induced inhibition of the reabsorption of inorganic phosphate in the proximal tubule in the absence of parathyroid hormone. Renal Physiol 7:115-123

Evers C, Murer H, Kinne R (1978) Effect of parathyrin on the transport properties of isolated renal brush-border vesicles. Biochem J 172:49-56

Freiberg JM, Kinsella J, Sacktor B (1982) Glucocorticoids increase the $\text{Na}^+\text{-H}^+$ exchange and decrease the Na^+ gradient-dependent phosphate-uptake systems in renal brush border membrane vesicles. Proc Natl Acad Sci USA 79:4932-4936

Frick A (1968) Reabsorption of inorganic phosphate in the rat kidney. I. Saturation of transport mechanism. II. Suppression of fractional phosphate reabsorption due to expansion of extracellular fluid volume. Pflügers Arch 304:351-364

Frick A (1969) Mechanism of inorganic phosphate diuresis secondary to saline infusions in the rat. Pflügers Arch 313:106-122

Frick A (1971) Parathormone as a mediator of inorganic phosphate diuresis during saline infusion in the rat. Pflügers Arch 325:1-13

Frick A (1972) Proximal tubular reabsorption of inorganic phosphate during saline infusion in the rat. Am J Physiol 223:1034-1040

Frick A, Durasin I (1977) Effect of expansion of extracellular fluid volume on the maximal reabsorptive capacity for inorganic phosphate in parathyroidectomized and intact rats. Pflügers Arch 370:115-119

Frick A, Durasin I (1978) Maximal reabsorptive capacity for inorganic phosphate (Tm_{Pi}) in the absence of parathyroid hormone in the rat: Decrease of the Tm_{Pi} during prolonged administration of phosphate and the role of calcium. Pflügers Arch 377:9-14

Frick A, Durasin I (1979) Acute effects of hydrocortisone on the reabsorption of inorganic phosphate in normal, adrenalectomized and parathyroidectomized rats. Pflügers Arch 382:123-126

Frick A, Durasin I (1980) Proximal tubular reabsorption of inorganic phosphate in adrenalectomized rats. Pflügers Arch 385:189-192

Frick A, Durasin I, Neuweg M (1981) Phosphaturic response of hydrocortison in the presence and the absence of parathyroid hormone. Pflügers Arch 392:99-105

Frick A, Neuweg M, Durasin I (1982) Dosis-response-relationship between bovine parathyroid hormone (b-PTH(1-34)-Beckman) and the renal handling of inorganic phosphate in acutely parathyroidectomized rats. Pflügers Arch Suppl 394:R24

Fucik RF, Kukreja SC, Hargis GK, Bowser EN, Henderson WJ, Williams GA (1975) Effect of glucocorticoids on function of the parathyroid glands in man. J Clin Endocrinol Metab 40:152-155

Ganong WF: Review of medical physiology, 4th Edition 1969, translated by W Auerswald, Medizinische Physiologie. Berlin, Heidelberg, New York: Springer 1971

Gekle D (1971) Der Einfluß von Parathormon auf die Nierenfunktion. 1. Tierexperimentelle Untersuchungen. Pflügers Arch 323:96-120

Gilman AG (1970) A protein binding assay for adenosine 3':5'-cyclic monophosphate. Proc Natl Acad Sci 67:305-312

Gmaj P, Biber J, Angielski S, Stange G, Murer H (1984) Intravesicular NAD has no effect on sodium-dependent phosphate transport in isolated renal brush border membrane vesicles. Pflügers Arch 400:60-65

Goldsmith RS, Siemsen AW, Mason AD Jr, Forland M (1965) Primary role of plasma hydrocortisone concentration in the regulation of the normal forenoon pattern of urinary phosphate excretion. J Clin Endocrinol Metab 25:1649-1659

Granner DK: The role of glucocorticoid hormones as biological amplifiers. In: Glucocorticoid Hormone Action, ed. by JD Baxter, GG Rousseau, p. 593-611, Berlin, Heidelberg, New York: Springer 1979

Greengard P (1978) Phosphorylated proteins as physiological effectors. Science 199:146-152

Greger R, Lang F, Marchand G, Knox FG (1977a) Site of renal phosphate reabsorption. Micropuncture and microinfusion study. Pflügers Arch 369:111-118

Greger RF, Lang FC, Knox FG, Lechene CP (1977b) Absence of significant secretory flux of phosphate in the proximal convoluted tubule. Am J Physiol 232:F235-F238

Greger R, Lang F, Marchand G, Knox FG (1977c) The postproximal site of phosphate reabsorption in presence and absence of parathyroid hormone. Adv Exp Med Biol 81:149-151

Haack D, Möhring J, Möhring B, Petri M, Hackenthal E (1977) Comparative study on development of corticosterone and DOCA hypertension in rats. Am J Physiol 233:F403-F411

Haas JA, Berndt T, Knox FG (1978) Nephron heterogeneity of phosphate reabsorption. Am J Physiol 234:F287-F290

Hahn TJ, Halstead LR (1979) Cortisol enhancement of PTH-stimulated cyclic AMP accumulation in cultured fetal rat long bone rudiments. *Calcif Tissue Int* 29:173-175

Haramati A, Knox FG (1983) Tubular capacity of phosphate transport in phosphate-deprived rats: effects of nicotinamide and PTH. *Am J Physiol* 244:F178-F184

Harris CA, Baer PG, Chirito E, Dirks JH (1974) Composition of mammalian glomerular filtrate. *Am J Physiol* 227:972-976

Hebert CS, Rouse D, Eknayan G, Martinez-Maldonado M, Suki WN (1972) Decreased phosphate reabsorption by volume expansion in the dog. *Kidney Int* 2:247-252

Hiatt HH, Thompson, DD (1957) The effects of parathyroid extract on renal function in man. *J Clin Invest* 36:557-565

Hoffmann N, Thees M, Kinne R (1976) Phosphate transport by isolated renal brush border vesicles. *Pflügers Arch* 362:147-156

Ingle DJ (1952) The role of the adrenal cortex in homeostasis. *J Endocrinol* 8:23-37

Jost JP, Rickenberg HV (1971) Cyclic AMP. *Ann Rev Biochem* 40:741-774

Kaminsky NI, Broadus AE, Hardman JG, Jones DJ Jr, Ball JH, Sutherland EW, Liddle GW (1970) Effects of parathyroid hormone on plasma and urinary adenosine 3',5'-monophosphate in man. *J Clin Invest* 49:2387-2395

Kempson SA, Colon-Otero G, Ou S-YL, Turner ST, Dousa TP (1981) Possible role of nicotinamide adenine dinucleotide as an intracellular regulator of renal transport of phosphate in the rat. *J Clin Invest* 67:1347-1360

Kinne R, Shlatz LJ, Kinne-Saffran E, Schwartz IL (1975) Distribution of membrane-bound cyclic AMP-dependent protein kinase in plasma membranes of cells of the kidney cortex. *J Membrane Biol* 24:145-159

Kinne R, Berner W, Hoffmann N, Murer H (1977) Phosphate transport by isolated renal and intestinal plasma membranes. *Adv Exp Med Biol* 81:265-277

Knox FG, Lechene C (1975) Distal site of action of parathyroid hormone on phosphate reabsorption. *Am J Physiol* 229:1556-1560

Knox FG, Haas JA, Berndt T, Marchand GR, Youngberg SP (1977) Phosphate transport in superficial and deep nephrons in phosphate-loaded rats. *Am J Physiol* 233:F150-F153

Knox FG, Hoppe A, Kempson SA, Shah SV, Dousa TP: Cellular mechanism of phosphate transport. In: *Renal Handling of Phosphate*, ed. by SG Massry and H Fleisch, p. 79. New York, Plenum Publishing Corp 1980

Koide Y, Kugai N, Yamashita K, Shimazawa E, Ogata E (1976) A transient increase in renal clearance of phosphate in response to continuous infusion of salmon calcitonin in rats. *Endocrinol Japon* 23:295-304

Kreusser WJ, Descoeurdes C, Oda Y, Massry SG, Kurokawa K (1980) Effect of phosphate depletion on renal gluconeogenesis. *Miner Electrolyte Metab* 3:312-323

Kuntziger H, Amiel C, Gaudebout C (1972) Phosphate handling by the rat nephron during saline diuresis. *Kidney Int* 2:318-323

Kuntziger H, Amiel C, Roinel N, Morel F (1974) Effects of parathyroidectomy and cyclic AMP on renal transport of phosphate, calcium and magnesium. *Am J Physiol* 227:905-911

Lang F, Greger R, Marchand G, Knox F (1977a) Saturation kinetics of phosphate reabsorption in rats. *Adv Exp Med Biol* 81:153-155

Lang F, Greger R, Marchand GR, Knox FG (1977b) Stationary microperfusion study of phosphate reabsorption in proximal and distal nephron segments. *Pflügers Arch* 368:45-48

Lang RP, Yanagawa N, Nord EP, Sakhrani L, Lee S-H, Fine LG (1983) Nucleotide inhibition of phosphate transport in the renal proximal tubule. *Am J Physiol* 245:F263-F271

Laron Z, Crawford JD, Klein R (1957) Phosphaturic effect of cortisone in normal and parathyroidectomized rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 96:649-651

Lau K, Goldfarb S, Goldber M: The effects of parathyroid hormone on renal phosphate handling. In: *Renal Handling of Phosphate*, ed. by SG Massry and H Fleisch, p. 115. New York, Plenum Publishing Corp 1980

Lavin N, Rachelefsky G, Kaplan SA (1975) Inhibition of cyclic-AMP phosphodiesterase in human lymphocytes by physiological concentrations of hydrocortisone. *Horm Metab Res* 7:253-258

Le Grimellec C (1975) Micropuncture study along the proximal convoluted tubule. Electrolyte reabsorption in first convolutions. *Pflügers Arch* 354:133-150

Madsen S, Ølgaard K, Ladefoged J (1977) The maximal tubular reabsorption of phosphate in relation to serum parathyroid hormone. *Adv Exp Med Biol* 81:141-148

Maesaka JK, Levitt MF, Abramson RG (1973) Effect of saline infusion on phosphate transport in intact and thyroparathyroidectomized rats. *Am J Physiol* 225:1421-1429

Manganiello V, Vaughan M (1972) An effect of dexamethasone on adenosine 3',5'-monophosphate content and adenosine 3',5'-monophosphate phosphodiesterase activity of cultured hepatoma cells. *J Clin Invest* 51:2763-2767

Marx SJ, Woodard CJ, Aurbach GD (1972) Calcitonin receptors of kidney and bone. *Science* 178:999-1001

Massry SG, Coburn JW, Kleeman CR (1969) The influence of extracellular volume expansion on renal phosphate reabsorption in the dog. *J Clin Invest* 48:1237-1245

Melick RA, Aurbach GD, Potts JT Jr (1965) Distribution and half-life of ¹³¹I-labeled parathyroid hormone in the rat. *Endocrinology* 77:198-202

Milhaud G, Mouhktar MS, Cherian G, Perault AM (1966) Effet de l'administration de thyrocalcitonine sur les principaux paramètres du métabolisme du calcium du rat normal et du rat thyroparathyroïdectomisé. C R Acad Sci 262:511-514

Mills JN, Thomas S (1958) The acute effects of cortisone and cortisol upon renal function in man. J Endocrinol 17:41-53

Mishina T, Scholer DW, Edelman JS (1981) Glucocorticoid receptors in rat kidney cortical tubules enriched in proximal and distal segments. Am J Physiol 240:F38-F45

Morel F (1981) Sites of hormone action in the mammalian nephron. Am J Physiol 240:F159-F164

Morel F, Chabardès D, Imbert-Teboul M, Le Bouffant F, Hus-Citharel A, Montégut M (1982) Multiple hormonal control of adenylate cyclase in distal segments of the rat kidney. Kidney Int 21, Suppl 11:S55-S62

Mühlbauer RC, Bonjour JP, Fleisch H (1977) Tubular localization of adaptation to dietary phosphate in rats. Am J Physiol 233:F342-F348

Neuweg M, Durasin I, Frick A (1983) Sex difference in the renal handling of inorganic phosphate in the rat in the absence of parathyroid hormone (PTH). Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol Suppl 322:R 18

Ng B, Hekkelman JW, Heersche JNM (1979) The effect of cortisol on the adenosine 3',5'-monophosphate response to parathyroid hormone of bone in vitro. Endocrinology 104:1130-1135

Nielsen SP, Buchanan-Lee B, Matthews EW, Moseley JM, Williams CC (1971) Acute effects of synthetic porcine calcitonins on the renal excretion of magnesium, inorganic phosphate, sodium and potassium. *J Endocrinol* 51:455-464

Oberleithner H, Lang F, Greger R, Sporer H (1980) Additivity of the phosphaturic action of parathyrin and calcitonin in the rat kidney. *Adv Exp Med Biol* 128:129-134

Pak CYC, Ruskin B, Casper A (1970) Renal effects of porcine thyrocalcitonin in the dog. *Endocrinology* 87:262-270

Pastoriza-Munoz E, Colindres RE, Lassiter WE, Lechene C (1978) Effect of parathyroid hormone on phosphate reabsorption in rat distal convolution. *Am J Physiol* 235:F321-330

Pastoriza-Munoz E, Mishler DR, Lechene C (1983) Effect of phosphate deprivation on phosphate reabsorption in rat nephron: role of PTH. *Am J Physiol* 244:F140-F149

Peters G (1959) Der Einfluß von Nebennierenrindenhormonen auf die renale Wasser- und Elektrolytausscheidung bei adrenalektomierten und normalen Ratten nach Gabe von Wasser oder isotonischer NaCl-Lösung und im Durst. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Exp Pathol Pharmacol* 235:155-184

Pitts RF, Alexander RS (1944) The renal reabsorptive mechanism for inorganic phosphate in normal and acidotic dogs. *Am J Physiol* 142:648-662

Pitts RF: Physiology of the Kidney and Body Fluids, Third Edition. Year Book Medical Publishers Inc 1974

Poujeol P, Corman B, Touvay C, De Rouffignac C (1977) Phosphate reabsorption in rat nephron terminal segments. Intrarenal heterogeneity and strain differences. Pflügers Arch 371:39-44

Roberts KE, Pitts RT (1953) The effects of cortisone and desoxycorticosterone on the renal tubular reabsorption of phosphate and the excretion of titrable acid and potassium in dogs. Endocrinology 52:324-330

Robinson CJ, Martin TJ, McIntyre I (1966) Phosphaturic effect of thyrocalcitonin. Lancet 1:83-84

Rocha AS, Magaldi JB, Kokko JP (1977) Calcium and phosphate transport in isolated segments of rabbit Henle's loop. J Clin Invest 59:975-983

Schmidtke J, Wienker Th, Flügel M, Engel W (1976) In vitro inhibition of cyclic AMP phosphodiesterase by cortisol. Nature 262:593-594

Schneider EG, Hanson RC, Childers JW, Fitzgerald EM, Gleason SD: Is phosphate secreted by the kidney? In: Renal Handling of Phosphate, ed. by SG Massry and H Fleisch, p. 59. New York, Plenum Publishing Corp 1980

Shikita M, Tsurufuji S, Ito Y (1962) Adaptation in renal phosphorus excretion under the influence of parathyroids; a study of unilaterally catheterized rats. Endocrinol Japon 9:171-180

Staum BB, Hamburger RJ, Goldberg M (1972) Tracer microinjection study of renal tubular phosphate reabsorption in the rat. J Clin Invest 51:2271-2276

Steele TH (1970) Increased urinary phosphate excretion following volume expansion in normal man. Metabolism 19:129-139

Steele TH, Dudgeon KL (1974) Reabsorption of lithium and phosphate by the rat kidney: Role of the parathyroids. Kidney Int 5:196-201

Steele TH, DeLuca HF (1976) Influence of dietary phosphorus on renal phosphate reabsorption in the parathyroidectomized rat. J Clin Invest 57:867-874

Steele TH, Underwood JL, Stromberg BA, Larmore CA (1976) Renal resistance to parathyroid hormone during phosphorus deprivation. J Clin Invest 58:1461-1464

Stoll R, Kinne R, Murer H (1979) Effect of dietary phosphate intake on phosphate transport by isolated rat renal brush-border vesicles. Biochem J 180:465-470

Stolte H, Brecht JP, Wiederholt M, Hierholzer K (1968) Einfluß von Adrenalektomie und Glucocorticoiden auf die Wasserpermeabilität corticaler Nephronschnitte der Rattenniere. Pflügers Arch 299:99-127

Strickler JC, Thompson DD, Klose RM, Giebisch G (1964) Micro-puncture study of inorganic phosphate excretion in the rat. J Clin Invest 43:1596-1607

Tenenhouse HS, Chu YL (1982) Hydrolysis of nicotinamide-adenine dinucleotide by purified renal brush border membranes. *Biochem J* 204:635-638

Thompson DD, Hiatt HH (1957) Effects of phosphate loading and depletion on the renal excretion and reabsorption of inorganic phosphate. *J Clin Invest* 36:566-572

Tröhler U, Bonjour JP, Fleisch H (1976) Inorganic phosphate homeostasis. Renal adaptation to the dietary intake in intact and thyroparathyroidectomized rats. *J Clin Invest* 57:264-273

Turner ST, Kiebzak GM, Dousa TP (1982) Mechanism of glucocorticoid effect on renal transport of phosphate. *Am J Physiol* 243:C227-C236

Ullrich KJ, Capasso R, Rumrich G, Papavassiliou F, Klöss S (1977a) Coupling between proximal tubular transport processes. Studies with ouabain, SITS and HCO_3^- -free solutions. *Pflügers Arch* 368:245-252

Ullrich KJ, Rumrich G, Klöss S (1977b) Phosphate transport in the proximal convolution of the rat kidney. I. Tubular heterogeneity, effect of parathyroid hormone in acute and chronic parathyroidectomized animals and effect of phosphate diet. *Pflügers Arch* 372:269-274

Ullrich KJ, Frömter E, Murer H (1979) Prinzipien des epithelialen Transportes in Niere und Darm. *Klin Wochenschr* 57:977-991

Walser M, Davidson DG, Orloff J (1955) The renal clearance of alkali-stable inulin. J Clin Invest 34:1520-1525

Wen SF (1974) Micropuncture studies of phosphate transport in the proximal tubule of the dog. J Clin Invest 53:143-153

Wiederholt M, Stolte H, Brecht JP, Hierholzer K (1966) Mikropunktionsuntersuchungen über den Einfluß von Aldosteron, Cortison und Dexamethason auf die renale Natriumresorption adrenaletomierter Ratten. Pflügers Arch 292:316-333

Williams GA, Peterson WC, Bowser EN, Henderson WJ, Hargis GK, Martinez NJ (1974) Interrelationship of parathyroid and adrenocortical function in calcium homeostasis in the rat. Endocrinology 95:707-712

Danken möchte ich allen, mit deren Hilfe und Unterstützung mir die Durchführung der vorliegenden Arbeit ermöglicht wurde, wobei mein besonderer Dank Herrn Prof. Dr. A. Frick und Herrn Prof. Dr. E. Gerlach gilt.

Lebenslauf

Am 31. Januar 1948 wurde ich in Wernfeld/Main als Tochter des Konditors Anton Neuweg und seiner Ehefrau Maria geboren. Nach vier Jahren Volksschule besuchte ich das Realgymnasium in Gemünden, an dem ich 1967 die Reifeprüfung ablegte. An den Universitäten Würzburg, Zürich und Freiburg i. Br. studierte ich Biologie und Chemie. Das Studium der Zoologie an der Universität Zürich beendete ich 1977 mit dem Diplom. Von 1978 bis 1979 nahm ich an einem Postgraduate-Kurs in experimenteller Medizin und Biologie in der Schweiz teil. Von 1980 bis 1984 arbeitete ich als wissenschaftliche Hilfskraft am Physiologischen Institut der Universität München.

